

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

**GASCHROMATOGRAPHISCHE
UND MASSENSPEKTROMETRISCHE UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DAS AUFTRETEN LEICHTFLÜCHTIGER
VERBINDUNGEN BEI DER LEICHENFÄULNIS**

Der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
als Habilitationsschrift

vorgelegt

von

Dr. med. L. Lautenbach

1968



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548410_0071

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

**GASCHROMATOGRAPHISCHE
UND MASSENSPEKTROMETRISCHE UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DAS AUFTRETEN LEICHTFLÜCHTIGER
VERBINDUNGEN BEI DER LEICHENFÄULNIS**

Der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
als Habilitationsschrift

vorgelegt
von
Dr. med. L. Lautenbach

1968

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg



Tag der Habilitation: 20. 6. 1968

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. PROBLEMSTELLUNG	1
2. METHODIK	4
2.1) Untersuchungsmaterial	4
2.2) Einzel- und Reihenuntersuchungen	4
2.3) Vorbereitungen der Proben zur gas- chromatographischen Analyse	6
2.3.1) Destillation mit Anreicherung der flüchtigen Komponenten	6
2.3.2) Andere Anreicherungsversuche	7
2.3.3) Untersuchung der Dampfphase über einer Probe	7
2.3.4) Weitere Verfahren	8
Extraktion mit Estern der Essigsäure und mit Dioxan	
Extraktive Pentandestillation	
Chemische Vorbehandlung der Proben	
2.4) Die gaschromatographische Trennung	9
2.4.1) Untersuchungen mit dem Fraktometer 154 B von "Perkin-Elmer"	9
Vorschaltung einer Glycerinsäule	
Die chromatographische Analyse von Gasen im biologischen Material	
2.4.2) Untersuchungen mit dem Fraktometer F 20 von "Perkin-Elmer"	12
2.5) Zur Identifizierung der gaschromato- graphischen Fraktionen	14
2.6) Identifizierung mit dem Massenspektrometer	14
2.6.1) Koppelung des Gaschromatographen an das Massenspektrometer mit Strömungsteilung (Einlaßsystem EC 1)	15

2.6.2)	Direktanschluß einer Kapillarsäule an das Massenspektrometer	16
2.6.3)	Die Aufnahme von Massenspektren	17
2.6.4)	Auswertung der Massenspektren	19
2.7)	Quantitative Analysen	19
2.8)	Bestimmung des Wassergehaltes im Leichenblut	19
3.	ERGEBNISSE	21
3.1)	Gase bei der Leichenfäulnis	21
3.2)	Bildung niederer aliphatischer Alkohole	24
3.2.1)	Qualitative Befunde	25
3.2.1.1)	Identifizierung der Fäulnisalkohole	25
3.2.1.2)	Bakteriologische Beobachtungen	27
3.2.2)	Quantitative Befunde	30
	Häufigkeit der Alkoholneubildung	
	Ergebnisse der Fäulnisversuche	
3.2.3)	Beurteilung der Alkoholfunde im Leichenblut	36
	Verhalten der Blutalkoholkonzentration nach Todeseintritt	
	Postmortale Veränderung des Wasserge- haltes im Blut	
	Postmortale Abnahme des Blutalkohol- spiegels	
	Berechnung der Alkoholneubildung	
3.3)	Aceton	39
3.4)	Aldehyde	40
3.5)	Bildung weiterer flüchtiger Stoffe	41
4.	ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE	42

1. PROBLEMSTELLUNG

In der gerichtsmedizinischen Forschung über Leichenerscheinungen standen ursprünglich hauptsächlich Fragen im Vordergrund, die morphologischen Veränderungen des Leichnams gewidmet waren. Sie ergaben sich u. a. im Zusammenhang mit der Feststellung der Todeszeit, der Todesursache sowie der Abgrenzung vitaler von postmortalen Gewalteinwirkungen auf den Körper. Zur Aufklärung der Vorgänge, die sich unmittelbar nach Todeseintritt vollziehen, trugen die Erkenntnisse, welche histologisch und schließlich auch biochemisch beim Studium der Nekrobiose gewonnen wurden (siehe E. MÜLLER, LINDNER und RAEKALLIO), wesentlich bei, da es sich im Grunde um ganz ähnliche Prozesse handelt. Von der Autolyse schreiten die Leichenveränderungen dann jedoch zu Vorgängen eigener Art, wie Fäulnis, Verwesung, Mumifikation, Fettwachsbildung usw. fort. Die gerichtsmedizinische Diagnostik hat sich mit diesen späten Leichenerscheinungen besonders häufig auseinanderzusetzen.

In den Anfängen der forensischen Toxikologie wurde der Leichenzersetzung keine oder nur indirekte (z. B. bei der Frage des Ein- oder Auswanderns von Metallgiften im Erdgrab) Beachtung geschenkt. Das Interesse daran, daß sich die Struktur eines Giftes im toten Organismus umwandeln kann, wuchs in dem Maße, in dem organische Substanzen bei Vergiftungen eine Rolle spielten. Einzelbeobachtungen über Umwandlungen von Giften machten es schließlich erforderlich, die chemischen Vorgänge in der Leiche eingehend zu studieren. 1937 hat SPECHT die Abbaureaktionen bei der Leichenzersetzung zusammenfassend dargestellt. Zwanzig Jahre später empfahl WEINIG, den inzwischen zu einem umfang-

reichen Gebiet angewachsenen Forschungszweig über chemische Leichenveränderungen als Thanatochemie von der Chemie der Lebensvorgänge, der Biochemie, abzugrenzen.

Aber nicht nur eine Umwandlung von Giften, sondern auch die Neubildung von Stoffen während der Autolyse und Fäulnis, welche Gifte oder Metaboliten davon darstellen, muß in der forensisch-chemischen Analyse berücksichtigt werden (WEINIG, G. SCHMIDT). Wiederholt hat diese Fragestellung die gerichtliche Praxis, z. B. bei Mordanklagen wegen Giftbeibringung bewegt. Von den ersten Studien auf diesem Gebiet sei hier nur auf die Arbeiten zur Erforschung der sogenannten Leichenalkaloide hingewiesen.

Die vorliegenden Untersuchungen galten der Bestimmung flüchtiger Fäulnisstoffe, die eine Vergiftung vortäuschen, die Menge zu Lebzeiten aufgenommener Substanzen erhöhen oder die Analyse weiterer Gifte erschweren können. Auch wurden andere gerichtsmedizinische Fragestellungen berücksichtigt, wie z. B. der Nachweis von Sauerstoff im Magen-Darminhalt bei Kindstötung sowie im Herzen bei fraglicher Luftembolie. Die bisher in der Literatur erschienenen Mitteilungen, welche ähnliche Probleme behandelten, ließen erkennen, daß methodische Schwierigkeiten meist einer exakten Feststellung der flüchtigen Substanzen im Wege standen und daß viele Schlußfolgerungen auf unspezifischen Analysen beruhten. Eine Vielzahl sich widersprechender Ansichten war die Folge. Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es deshalb, zunächst die apparativen und methodischen Voraussetzungen zu schaffen, um den Nachweis der zahlreichen forensisch bedeutsamen Stoffe auf gaschromatographischem und massenspektrometrischem Wege sicher führen zu können. Dann erst bestand Aussicht, über systematische Reihenversuche und mit Hilfe vieler Einzelbestimmungen eine Grundlage zu schaffen, um die Befunde der

■
toxikologischen Analyse flüchtiger Verbindungen in menschlichen Leichenteilen beurteilen zu können.

2. METHODIK

2.1) Untersuchungsmaterial

Zur Untersuchung gelangten ausschließlich menschliche Leichenteile und Körperflüssigkeiten aus dem eigenen Sektionsgut sowie aus Einsendungen zur toxikologischen Analyse. Weiterhin standen etwa 1700 Proben mit Leichenblut aus Oberschenkelvenen und Harn zur Verfügung, die uns Gerichtsärzte und Polizei zur Feststellung des Alkoholgehaltes übersandt hatten. Das Material war in chemisch reinen, meist aber nicht sterilen Gefäßen asserviert worden. Für umfangreichere Versuchsreihen entnahmen wir bei plötzlichen gewaltsamen Todesfällen Leichen wenige Stunden nach Todeseintritt Blut in einer Menge bis 1,5 Liter durch Einführen einer Sonde von der Vena femoralis in die untere Hohlvene. Auch dabei wurde eine Keimbesiedlung des Blutes während der Entnahme absichtlich nicht verhindert.

2.2) Einzel- und Reihenuntersuchungen

Neben Einzeluntersuchungen, die der qualitativen und quantitativen Bestimmung von Fäulnisstoffen dienten, sind Reihenversuche zum Studium des Verlaufes der Spontanfäulnis durchgeführt worden.

Hierzu wurden anfangs Blut und anderes Leichenmaterial in einer Menge von ca. 5 g für aerobe Versuche in verschlossenen Glasgefäßen unter einer Luftsäule von ungefähr $\frac{1}{3}$ des Probevolumens inkubiert und täglich, längstens in dreitägigem Abstand bei Entnahme von Material belüftet. Für Studien unter anaeroben Bedingungen wurden die Proben in

vollständig gefüllten Venüलगläschen oder luftdicht verschlossenen Plastiksäckchen angesetzt. Diese Proben bewahrten wir dann in einem dunklen Kellerraum bei einer Temperatur zwischen 22 - 25 ° C bis zur Untersuchung auf.

Die Aufteilung des Substrates in viele Einzelproben hatte, vor allem bei den anaeroben Versuchsreihen, bei denen für jede Analyse ein noch uneröffneter Ansatz verwendet werden mußte, eine deutliche Streuung der Ergebnisse zur Folge, weil sich die Fäulniskeime in verschiedenen Gläsern einheitlich entwickelten. Es blieb auch viel Untersuchungsmaterial ungenutzt, was sich auf die Zahl der möglichen Einzelbestimmungen nachteilig auswirkte. Ein weiteres Problem stellte der im Laufe der Versuche zunehmende Druck an Fäulnisgasen dar. Deshalb verwendeten wir später die in Abb. 1 dargestellten Behältnisse, d. h. für aerobe Versuche 100 ml-Plastikflaschen mit Anschluß an ein Belüftungssystem und für anaerobe Versuche Oberteile von Plastikflaschen mit angeschweißten Plastiksäckchen. Die Spontanfäulnis konnte nunmehr mit 1,0 - 1,5 Liter Blut, das von einer Leiche stammte, gleichzeitig unter verschiedenen Bedingungen selbst bei täglicher Untersuchung über mehrere Wochen verfolgt werden, indem wir das Blut auf zehn Gefäße verteilten und je einen aeroben und anaeroben Ansatz im Kühlschrank bei + 4 ° C, im fließenden Leitungswasser bei 12 - 13 ° C, im stehenden Wasser bei 22 - 24 ° C sowie im Wasserbad-Thermostat bei 30 ° C und 40 ° C inkubierten. Die für die Einzelbestimmungen erforderliche Probenmenge wurde aus den aeroben Ansätzen durch Aufsetzen einer Pipette (6) auf das Plastikrohr (4) entnommen. Aus den anaeroben Ansätzen ließ sie sich durch Umfassen des Plastiksäckchens (10) und Einstechen einer Kanüle (13) durch den Verschlußstopfen (3) direkt in die aufgesetzte Pipette (14) drücken (siehe Abb. 1).

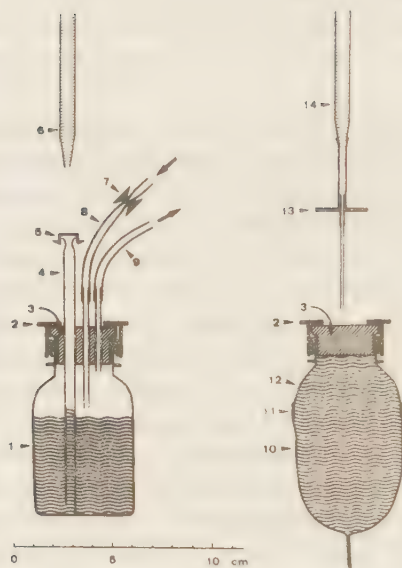


Abb. 1 Gefäße zur Durchführung von aeroben und anaeroben Fäulnisversuchen

- | | | | |
|---|--|----|--|
| 1 | 100 ml Plastikflasche | 10 | Plastiksäckchen |
| 2 | Schraubdeckel | 11 | luftdichte Verschweißung |
| 3 | Siliconstopfen | 12 | Oberteil einer 100 ml Plastikflasche |
| 4 | Plastikrohr zur Probenahme | 13 | Flügelkanüle mit kurzem Schlauchansatz |
| 5 | Gummikappe | 14 | 1 ml Pipette |
| 6 | 1 ml Pipette | | |
| 7 | regulierbarer Quetschhahn | | |
| 8 | Anschluß zur Luftpumpe | | |
| 9 | Entlüftungsleitung (durch Kühler geleitet) | | |

2.3) Vorbereitungen der Proben zur gaschromatographischen Analyse

Eine direkte Injektion unseres Untersuchungsmaterials in den Verdampfungsraum des Gaschromatographen war nur ausnahmsweise, z. B. bei der Untersuchung von Harn und Liquor möglich - Literaturübersicht über Methoden der gaschromatographischen Blutalkoholbestimmung bei MACHATA (1967) und ŠKRABÁNEK und NOVAK (1966) -. Die Proben mußten deshalb zumindest so vorbereitet werden, daß die flüchtigen von den schwer- bzw. nichtflüchtigen Stoffen abgetrennt wurden. Darüberhinaus ließ sich in vielen Fällen eine vorherige Anreicherung von Stoffspuren, vor allem bei nicht ausreichender Empfindlichkeit des jeweiligen gaschromatographischen Detektors, nicht umgehen. Schließlich machte auch die qualitative Analyse von Vielkomponentengemischen spezielle Vortrennungen erforderlich. Die von uns angewandten Probenvorbereitungen waren:

2.3.1) Destillation mit Anreicherung der flüchtigen Komponenten

Mit diesem Verfahren gelang es uns, flüchtige Spurenstoffe (z. B. niedere aliphatische Alkohole), deren Konzentration unter 2 mg % lag, im Fraktometer 154 B von "Perkin-Elmer" mit Wärmeleitfähigkeitsdetektor gaschromatographisch nachzuweisen, ohne die stationäre Phase zu überlasten und damit ihr Trennvermögen zu reduzieren. Der Probenansatz bestand aus 2 ml Blut, 2 ml Harn oder 5 g Organteilen, die mit der gleichen Menge Wasser oder zur Verbesserung der quantitativen Ergebnisse anstelle des Wassers mit einem inneren Standard z. B. einer 1 o/ooigen wässrigen Lösung von tert-Butanol, sec-Butanol oder Aceton verdünnt wurden. Die Einstellung des pH-Wertes im Ansatz richtete sich nach dem speziellen gaschromatographischen Trennproblem. Zur

Destillation und Anreicherung diente ein Rektifikations-
gerät nach BENEDETTI-PICHLER und SCHNEIDER in einer un-
seren Zwecken angepaßten Form (Abb. 2).

Ausführung: Die im Spitzkolben (1) befindliche Probe wird
im Wasserbad oder mit der Sparflamme eines Bunsenbrenners
so lange vorsichtig erwärmt, bis der erste Destillat-
tropfen vom senkrechten in den abfallenden Teil des De-
stillieraufsatzes übertritt. Das Destillat friert durch
das Kühlmittel (3) noch im abfallenden Schenkel des Auf-
satzes ein. Es kann nun nach Entfernen der Kühlung durch
Erwärmen des Rohres vom Scheitelpunkt des Aufsatzes her
wieder verflüssigt und unverzüglich in eine 10 µl Hamilton-
Spritze aufgenommen werden.

Spurenstoffe ließen sich auf diese Weise ca. 30-fach an-
reichern. Die Befunde waren reproduzierbar und eigneten
sich bei Bezug auf einen inneren Standard auch zur quanti-
tativen Auswertung.

2.3.2) Andere Anreicherungsversuche

Gute Ergebnisse bei der Spurenanalyse von Fäulnisverbin-
dungen erzielten wir ferner mit Anreicherungsverfahren,
die zum Nachweis von Aromastoffen herangezogen worden sind
(MEHLITZ und GIERSCNER u. a.), und mit der kürzlich von
JANÁK beschriebenen Phasengleichgewichtsmethode.

2.3.3) Untersuchung der Dampfphase über einer Probe

Zu Beginn unserer Versuche verschafften wir uns einen Über-
blick über Zahl, Menge und Art der sich bei der Fäulnis
bildenden flüchtigen Stoffe, indem wir 1 Liter-Standkolben
mit Leichenteilen (ca. 100 g) an das Fraktometer 154 B an-
geschlossen und über das Gaseinlaßsystem täglich 25 ml Dampf-
phase direkt aus dem Kolben analysierten. Dieses Verfahren

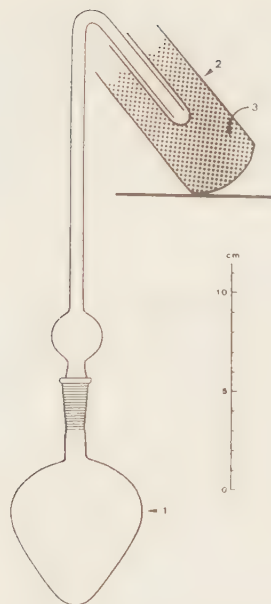


Abb. 2 Rektifikationsgerät nach BENEDETTI-PICHLER und
 SCHNEIDER - modifiziert - zur anreichernden
 Mikrodestillation

- 1 100 ml Spitzkolben mit Schliff NS 10/30 (bei Organunter-
 suchungen NS 29/32 und Schliffverbindungsstück)
- 2 Soxhlethülse 40 x 85
- 3 Kühlmittel (Kohlensäureschnee)

land später nach Erhöhung der gaschromatographischen Detektionsempfindlichkeit mit Hilfe des Flammenionisationsdetektors (FID) in abgewandelter Form unter der Bezeichnung "head-space"-Gasanalyse weite Verbreitung. MACHATA entwickelte daraus eine Routinemethode zur Blutaalkoholbestimmung, die wir für Fäulnisanalysen mit dem Fraktometer F 20 übernehmen konnten.

2.3.4) Weitere Verfahren

Die Extraktion des Blutes mit Estern der Essigsäure, wie sie von DIETZE, CADMAN und JOHNS, JANITZKI, OSTERHAUS und JOHANNSMIEIER, BOBER, STEINBERG u. a., sowie ŠKRABANEK und NOVAK bzw. mit Dioxan von DAVIS als Vorbereitung zur gaschromatographischen Analyse von Äthanol und anderen flüchtigen Stoffen mitgeteilt wurde, reichte zur Erfassung von Spurenkomponenten in unserem Untersuchungsmaterial bei Messungen mit dem Wärmeleitfähigkeitsdetektor nicht aus. Sie war auch unter Verwendung eines FID allein schon wegen der Gefahr des Einschleppens von Verunreinigungen mit dem Extraktionsmittel in die Probe und wegen des großen Unterschiedes im Mengenverhältnis zwischen dem zugesetzten Ester und den Fäulnisstoffen der "head-space"-Methode klar unterlegen.

Eine Anreicherung von Halogenkohlenwasserstoffen ließ sich mittels extraktiver Destillation unter Zugabe von n-Pentan zum Probenansatz herbeiführen (WEINIG und LAUTENBACH).

Zur Erleichterung der qualitativen Bestimmung von Mischungs-komponenten in den Proben wurden selektive chemische Vortrennungen und Umwandlungen bestimmter Stoffklassen angewandt, wie Destillation im sauren, neutralen und alkalischen Milieu, vorbereitende reinigende Destillation nach WEINIG, Unterscheidung der primären, sekundären und tertiären

Alkohole durch Oxydation mit KMnO_4 , Kondensation der Aldehyde und Ketone mit Dimethyldihydroresorcin, Dinitrophenylhydrazin usw. (Einzelheiten bei BAUER und MOLL).

Untersuchungen über mögliche Veränderungen bestimmter Stoffklassen während der Probenvorbereitung werden im 3. Teil der Arbeit besprochen.

2.4) Die gaschromatographische Trennung

2.4.1) Untersuchungen mit dem Fraktometer 154 B von "Perkin-Elmer"

Es wurden folgende apparative Bedingungen eingehalten:

Stationäre Phasen (gepackte Säulen von "Perkin-Elmer"):

Polyäthylenglykol 1500	auf Celite 545 (60/100)	= K-Säule
Ucon LB - 550 X	auf Celite 545 (60/100)	= R-Säule
Glycerin	auf Celite 545 (60/100)	= KA-Säule
Diäthylhexylsebacinat	auf Chromosorb R (60/80)	= B-Säule

Eine Säulenlänge von 2 m reichte in der Regel zur Trennung der vorhandenen Fraktionen aus.

Erhebliche Schwierigkeiten bereitete anfangs die gaschromatographische Untersuchung sehr verdünnter wäßriger Lösungen. Versuche, das Wasser durch Trockensäulen mit hygroskopischen Substanzen zu binden, blieben ohne Erfolg. Deshalb gingen wir schließlich dazu über, der eigentlichen Trennsäule des Fraktometers wahlweise eine 0,2 - 2 m lange Säule mit einer stationären Phase aus 3 Teilen Glycerin und 7 Teilen Kieselgur (später eine KA-Säule) vorzuschalten. Dadurch konnte die Elution des Wassers beliebig so lange ver-

zögert werden, daß der Wasserpeak die jeweils interessierenden Lösungskomponenten nicht mehr überdeckte (WEINIG, SCHWED und LAUTENBACH). Von der Firma Beckman Instruments GmbH. wurde diese Methode der Zweikolonnentechnik dann ebenfalls empfohlen (BOBER).

<u>Ofentemperatur:</u>	80 - 100 ° C
<u>Trärgas:</u>	Helium mit einer Strömung von etwa 50 ml/min
<u>Probenvolumen:</u>	im allgemeinen 5 µl
<u>Detektor:</u>	Thermistor
<u>Schreiber:</u>	5 mV-Kompensationsschreiber der Firma Leeds & Northrup ("Speedomax")

Die chromatographische Trennung von Gasen (Wasserstoff, Sauerstoff, Stickstoff, Stickoxyde, Kohlendioxyd, Kohlenmonoxyd und niedere aliphatische Kohlenwasserstoffe) ist in zahlreichen Veröffentlichungen ausführlich dargelegt (Zusammenfassungen u. a. bei BAYER, KAISER und KEULEMANS). Auch über die methodischen und apparativen Besonderheiten, die sich bei Anwendung dieses Verfahrens zum Nachweis der Gase im biologischen Material ergeben, wurde schon mehrfach berichtet (BURCHFIELD und STORRS, MACHATA sowie HESSEL und MODGLIN mit weiteren Literaturhinweisen). Befriedigend ist die Feststellung im biologischen Material aber noch nicht gelöst, besonders was die Bestimmung des Kohlenoxydgehaltes im Blut anbetrifft. Die Hersteller gaschromatographischer Geräte beginnen deshalb auch erst in jüngster Zeit, entsprechende Zubehörteile anzubieten (GREEN). Aus diesem Grunde waren wir gezwungen, eine Reaktions- und Einlaßvorrichtung selbst zu entwickeln (Abb. 3). Die Vorrichtung wird anstelle eines kalibrierten Substanzrohres an das Gasproben-einlaßteil des Fraktometers angeschlossen. Dem Verfahren liegt im Prinzip die Methode von VAN SLIKE, WEISIGER und

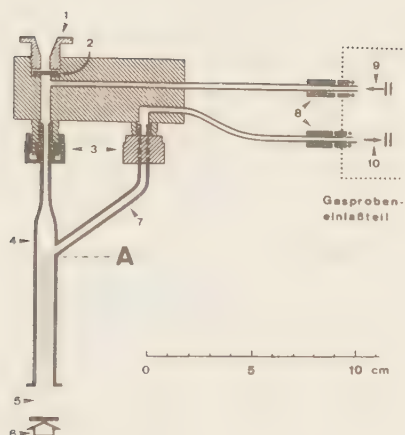


Abb. 3 Reaktions- und Einlaßvorrichtung zur Gasanalyse
(insbesondere CO) im Blut

- | | |
|--|---|
| 1 Verschußschraube des
Einspritzblockes | 7 Ableitung |
| 2 Einspritzgummi | 8 Verbindungskupplung am
Gasprobeneinlaßteil |
| 3 Quetschkupplung mit
Überwurfmutter | 9 Trägergas Zuleitung |
| 4 auswechselbare Glaskammer | 10 Trägergas Ableitung zur
Trennsäule |
| 5 Teflonkolben | 9 u. 10 durch Ventil ver-
schließbar |
| 6 verstellbare Arretierung
des Kolbens | |

CRUZ zugrunde.

Arbeitsvorschrift:

Probenmenge: 0,1 ml Blut oder Gewebepreßsaft

Reagentien: Lösung A: 32 g Kaliumferricyanid
1 g Saponin
ad 100 ml Aqua dest.

Lösung B: (Acetatpuffer nach WOLFF)
14,25 ml Eisessig
61,2 g Natriumacetat ($\cdot 3H_2O$)
ad 200 ml Aqua dest.

Lösung A und B vor der Untersuchung im Verhältnis 3 : 1 mischen.

Trennung der Gase an einer 2 m I-Säule (Molekularsieb 5 Å; Ca-Al-Silikat) von "Perkin-Elmer" bei einer Ofentemperatur von 50 ° C und einer Heliumströmung von 80 ml/min.

Von der Reaktionslösung (AB) werden zunächst 0,1 ml mittels 0,25 ml-Glasspritze mit langer Kanüle durch die Gummidichtung (Ziff. 2 in Abb. 3) so in die Vorrichtung injiziert, daß sich der Flüssigkeitsspiegel - durch den Teflonkolben (5) regulierbar - bei Marke A, also unterhalb der Zuleitung des Trägergases befindet. Anschließend wird die Kammer durch Öffnen des Ventiles am Gasprobeneinlaßteil (Stellung I.) mit Helium gespült. Die Entlüftung läßt sich gaschromatographisch kontrollieren. Ist sie beendet - spätestens nach 5 Minuten -, senkt man den Teflonkolben (5) etwas, schließt das Gasprobenventil (Stellung II.) und injiziert die Probe mit einer 0,25 ml-Glasspritze direkt in die Reaktionslösung. Dabei darf keine Nebenluft durch die Spritze in die Kammer gelangen. Die weiteren Schritte sind: Anheben

des Flüssigkeitsspiegels des Gemisches bis zur Marke A, 15 Minuten warten, dann Öffnen des Gasprobenventiles (Stellung I.). Das Helium befördert nun die aus der Probe freigesetzten Gase zur Trennsäule. Nach 20 Sekunden kann das Gasprobenventil bereits wieder geschlossen (Stellung II.) und bis zum Ende der gaschromatographischen Trennung - ca. 15 Minuten - nach Auswechseln des Glaseinsatzes eine neue Analyse vorbereitet werden.

Die Höhe des registrierten CO-Peaks gibt beim Vergleich mit Meßwerten aus CO-gesättigtem Blut Auskunft über den CO-Hb-Gehalt. Bei Benutzung des Mittelwertes aus drei Einzelbestimmungen betrug die Fehlerbreite (s) $\pm 2\%$. Eine Konzentration von 0,5 % CO-Hb ließ sich noch eindeutig nachweisen. Mit einem empfindlicheren Detektor oder durch Vergrößerung der Probenmenge kann die Nachweisgrenze aber ohne weiteres noch gesenkt werden. Das Verfahren ist streng spezifisch und ermöglicht auch eine sichere Feststellung von CO in Proben mit Fäulnisveränderungen. Sehr vorteilhaft ist außerdem der Umstand, daß sich aus dem Chromatogramm gleichzeitig auch die Sauerstoff- und Stickstoffkonzentration sowie das Vorhandensein weiterer Gase, die mit dem CO eingeatmet wurden, erkennen läßt (MACHATA).

2.4.2) Untersuchungen mit dem Fraktometer F 20 von "Perkin-Elmer"

Die Arbeitsbedingungen waren:

<u>Stationäre Phasen:</u>	2 m K- oder 2 m R-Säule
<u>Trärgas:</u>	Stickstoff mit einer Strömung von 25 ml/min
<u>Temperatur:</u>	Ofen 80 ° C, isotherm Einspritzblock 160 ° C
<u>Probenvolumen:</u>	1 µl bzw. 0,5 ml Dampfphase

<u>Detektor:</u>	FID (Flammenionisationsdetektor)
<u>Schreiber:</u>	Philips-Kompensationsschreiber (PR 2210 U/21) 2 mV

Der Einsatz eines FID mit seiner hohen Empfindlichkeit (untere Nachweisgrenze bei unseren Messungen für Äthanol $3 \cdot 10^{-8}$ g/sec) brachte ganz wesentliche Vorteile mit sich. So erübrigte sich nunmehr eine Anreicherung von Spurenstoffen. Auch die Anwendung des "head-space"-Verfahrens (siehe Abschnitt 2.3.3) wurde möglich, was einerseits erlaubte, den Ansatz pro Einzelbestimmung auf 0,5 ml Probenmenge zu verringern, andererseits zur Verkürzung der Analysendauer beitrug. Die Einfachheit der Probenvorbereitung machte sich nicht zuletzt auch auf die Qualität der Ergebnisse bemerkbar. Außerdem störte nunmehr der hohe Wassergehalt in den Proben nennenswert weder die gaschromatographische Trennung noch den qualitativen und quantitativen Nachweis der übrigen flüchtigen Fraktionen. Zu beachten ist lediglich, daß mit dem FID hauptsächlich nur C-haltige Substanzen, die beim Verbrennen schließlich CO_2 liefern, erfaßt und daß z. B. CO , CO_2 , HCN , COOH , CS_2 , SO_2 u. ä. Verbindungen unter normalen Bedingungen nicht angezeigt werden (KAISER).

Auf die besonders große Trennstufenzahl von Golaysäulen brauchten wir bei unserer Problemstellung nur ausnahmsweise zurückzugreifen. Wegen der geringen Belastbarkeit von Kapillarsäulen mit Probenflüssigkeit mußten Spurenstoffe dann vor der gaschromatographischen Untersuchung häufig wie früher angereichert werden.

2.5) Zur Identifizierung der gaschromatographischen Fraktionen

Von den vielen Möglichkeiten der Identifizierung gaschromatographischer Fraktionen, die im einschlägigen Schrifttum mitgeteilt worden sind, haben wir weitgehend Gebrauch gemacht. Wir waren dabei stets dessen eingedenk, daß der einfache Nachweis auf Grund des Vergleiches von Retentionswerten, Retentionsindices oder ähnlichen Bezugsgrößen zu Fehlschlüssen führen kann, wenn sich völlig unbekannte Komponenten in der Probe befinden. In solchen Fällen wurde die Aussage einer Bestimmung durch Messung charakteristischer relativer Änderungen der Retentionsdaten an mindestens einer weiteren stationären Phase mit unterschiedlichem Elutionsvermögen erhärtet. Daneben versuchten wir, wie zum Teil bereits ausgeführt, bei besonders schwierigen Trennvorhaben, die Zahl der Lösungskomponenten durch chemische Vorbehandlungen zu verringern oder vor bzw. nach der chromatographischen Trennung spezifische Umwandlungen und Reaktionen durchzuführen.

2.6) Identifizierung der gaschromatographischen Fraktionen mit dem Massenspektrometer

Für diese Untersuchungen standen ein Massenspektrometer der Atlas Meß- und Analystechnik GmbH, Bremen, Modell CH 4 mit einer Doppelionenquelleneinrichtung und für die Registrierung des Totalionenstromes und der Massenspektren ein Kompensationsschreiber von Leeds & Northrup CO ("Speedomax" G), ein Tektronix Oszilloskop (Typ 503) sowie ein UV-Oszillograph von Honeywell (Modell 1508 Visicorder) zur Verfügung. Ein Schema über die Meßanordnung gibt Abb. 4 wieder.

GESAMTANORDNUNG MIT DOPPELIONENQUELLE

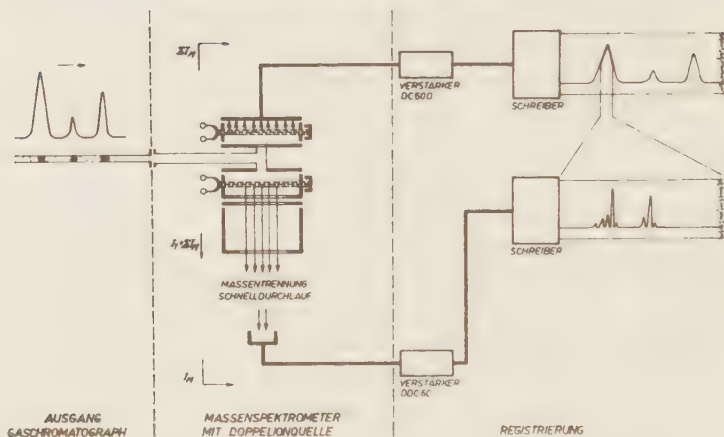


Abb. 4 Schematische Darstellung des Anschlusses eines Gaschromatographen an ein Massenspektrometer mit Doppelionenmeßeinrichtung (Atlas Meß- und Analysetechnik GmbH, Bremen)

Das Massenspektrometer als gaschromatographischer Detektor gewinnt wegen seiner großen Nachweisempfindlichkeit und hohen Informationskapazität zunehmend an Bedeutung. Aber die Kosten und Kompliziertheit der Apparatur und wohl auch die noch in vollem Flusse befindliche technische Entwicklung stehen vorerst einer allgemeinen Verbreitung im Wege. Die vielseitige Anwendbarkeit des Verfahrens spiegelt sich in einer großen Zahl von Publikationen wieder, so daß nur auf einige Übersichten hingewiesen werden kann (BRUNNÉE, JENCKEL und KRONENBERGER, BRUNNÉE und VOSHAGEN, STEINHAGEN, KAISER, VETSCH).

2.6.1) Die richtige Wahl der Koppelung des Gaschromatographen an das Massenspektrometer trägt nach unseren Erfahrungen in hohem Maße zum Erfolg der Untersuchungen bei. Sie hängt u. a. von der Problemstellung ab. Bei den ersten Untersuchungen schlossen wir den Ausgang des Fraktometers 15⁴ B an das Einlaßsystem EC 1 des Massenspektrometers an. Abb. 5 soll das Prinzip dieser Koppelung verdeutlichen. Aus dem Gasstrom, der den Chromatographen verläßt (ungefähr 1 ml/sec), wird ein Teil zur kontinuierlichen massenspektrometrischen Analyse mit Hilfe eines regelbaren Drosselventils (3) abgezweigt. Die Leckrate des Ventils läßt sich von $5 \cdot 10^{-7}$ atm ml/sec bis etwa 10^{-3} atm ml/sec vergrößern. Dann reicht die Saugleistung der Quecksilberdiffusionspumpen nicht mehr aus, den Druck in der Trennkammer oder die Raumladung in der Ionenquelle des Massenspektrometers in zulässigen Grenzen zu halten. Es kann also nur ein Bruchteil der gaschromatographisch getrennten Fraktionen in die Ionenquelle eingeschleust werden. Der Gaseinlaß ist zudem nicht linear und nicht entmischungsfrei. Aus diesem Grunde vermochten wir trotz Anreicherung der Proben (siehe Abschn. 2.3.1), beispielsweise das Massenspektrum von Äthanol erst dann aufzunehmen, wenn ein Äthylalkoholgehalt im Untersu-

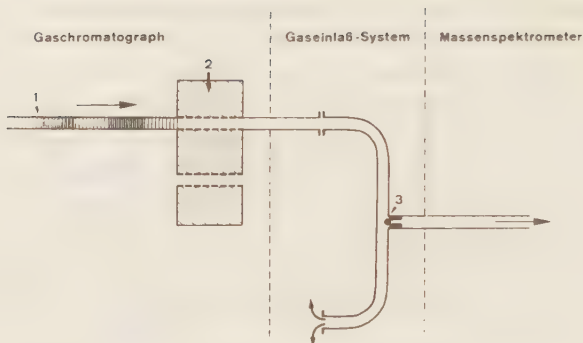


Abb. 5 Koppelung Gaschromatograph/Massenspektrometer mit dem Einlaßteil EC 1

- 1 Gaschromatographische Säule
- 2 Thermistorblock
- 3 Drosselventil (Leckrate verstellbar)



Abb. 6 Konstruktion des Direktanschlusses einer Kapillarsäule an das Massenspektrometer

- 1 Kapillarsäule
- 2 Vakuumkupplung MS 119
- 3 Flansch
- 4 Ultrahochvakuumventil NW 4
- 5 Flansch

chungsmaterial von über 0,2 o/oo vorhanden war.

2.6.2) Direktverbindung einer Kapillarsäule mit dem Massenspektrometer

Da viele Fäulnisstoffe und toxikologisch interessierende flüchtige Substanzen in den Körperflüssigkeiten in geringerer Konzentration vorkommen, waren wir gezwungen, eine direkte, verlustfreie Verbindung zwischen Gaschromatographen und Massenspektrometer herzustellen. Wenn man von der modernsten Form der Koppelung unter Zwischenschaltung eines mit zweistufiger Druckminderung ausgestatteten Heliumseparators, dessen Wert für die Anreicherung von Verbindungen mit niedrigem Molekulargewicht sowieso noch einer Überprüfung bedarf, absieht, kam somit nur der Direktanschluß einer Kapillarsäule in Betracht. An unserem Gerät (CH 4) war ein derartiges Einlaßsystem nicht vorgesehen. Es ließ sich jedoch in der von uns entwickelten Form (Abb. 6) nachträglich noch anschließen. Der kurze Einlaßweg versprach, daß sich Oberflächen- und Volumeneffekte im Rahmen des Unvermeidbaren halten würden. Daß sich die Trennleistung der Säule durch das veränderte Druckprofil infolge Rückwirkung des Hochvakuums bis zum Einspritzblock vermindert, mußte in Kauf genommen werden.

Der Analysengang gestaltete sich folgendermaßen:

Nach anreichernder Destillation des Untersuchungsmaterials (siehe Abschn. 2.3.1) wurden 3 µl Destillat mittels 10 µl-Hamilton-Spritze in den Einspritzblock des Fraktometers F 20 injiziert und nach Strömungsteilung 1 : 50 - 1 : 100 bei einer isothermen Ofentemperatur von 40 ° C an einer 50 m R-Golaysäule getrennt. Die Heliumströmung stellten wir vor der Koppelung mit dem Seifenblasenströmungsmesser auf

1 ml/min ein. Sie wurde nach der Koppelung anhand der Aufzeichnung des Totalionenstromes (TI) eines Alkoholeichgemisches optimiert. Bei den folgenden Untersuchungen konnte die Strömung unter Berücksichtigung der TI-Anzeige, die das Trägergas allein bewirkt hatte, stets auf den gleichen Wert einreguliert werden.

Einstellungen am Massenspektrometer:

Hochspannung für die Ionenquelle 3 kV

Heizung der Quelle 250 ° C

(Außenraum auf 80 ° C, GC/MM-Koppelung auf 120 ° C
thermostatisiert)

Elektronenstoßenergie der analyt. Quelle 70 eV,

der TI-Quelle fest eingestellt auf 20 eV

Emissionsstrom der analyt. Quelle 20 oder 40 µA,

der TI-Quelle 40 µA

Betriebsspannung am SEV-Auffänger 1,9 - 2,2 kV

2.6.3) Die Aufnahme von Massenspektren

Es wurden drei Wege zur massenspektrometrischen Bestimmung der gaschromatographischen Fraktionen beschritten:

- a) Die kontinuierliche Aufnahme mit fest eingestellter Massenzahl (z. B. m/e 29, 30, 31, 45, 47, 59 usw.);
- b) die Schnellregistrierung des Massenspektrums einzelner Stoffe mit dem UV-Oscillographen im Maximumbereich ihres Durchlaufes unter Berücksichtigung der TI-Werte der Doppelionenquelle, wobei der Massenbereich nach der zu erwartenden Substanz und der Massendurchlauf (1 - 7 sec) abhängig von der Peakbreite wahlweise eingestellt wurden;

- c) die kontinuierliche Schnellregistrierung der Massenspektren bei kurzem Abstand oder unvollständiger Trennung der Fraktionen und zur Erfassung von Spurenstoffen.

Die Nachweisempfindlichkeit war bei Aufnahmen mit fest eingestellter Massenzahl besonders groß und lag um einige Zehnerpotenzen über der unseres Flammenionisationsdetektors. Als Nachteil ist hervorzuheben, daß sich dieses Vorgehen nur zur Kontrolle oder zur Bestimmung einiger weniger Substanzen, bei deren Ionisation unverkennbare typische Bruchstückionen auftreten, eignet. Mit der kontinuierlichen Schnellregistrierung von Massenspektren ganzer Abschnitte des Gasstromes erzielten wir gute Ergebnisse. Nur ist der Arbeitsaufwand beim Auswerten der Aufnahmen unvergleichlich größer als bei Einzelregistrierungen. Wir konnten damit aber noch flüchtige Stoffe sicher identifizieren (z. B. Äthanol), die im Untersuchungsmaterial mit einer Konzentration von 0,001 o/oo (teilweise noch darunter) enthalten waren. Vom Massenspektrometer her hätte die Nachweisgrenze sogar noch gesenkt werden können. Im Helium enthaltene Verunreinigungen boten hier jedoch mit ihrem Untergrundspektrum Einhalt. Außerdem muß auf einen Störeffekt aufmerksam gemacht werden, der bislang keine Beachtung gefunden hat. Während der Untersuchung bilden sich aus der stationären Phase des Gaschromatographen flüchtige Zersetzungsprodukte, die besonders beim Durchtritt chemisch ähnlicher Stoffe durch die Säule in das Massenspektrometer mit eluiert werden. Sie verschlechtern nicht nur deutlich die Meßbedingungen, sondern verursachen auch eine Inkonzanz des Massenuntergrundspektrums.

2.6.4) Die Auswertung der Massenspektren geschah in üblicher Art und Weise durch Ermittlung des Basispeaks und Berechnung der relativen Peakhöhe möglichst vieler Massenzahlen. Zum Vergleich wurden selbst angefertigte Eichspektren und eine umfangreiche Sammlung von Massenspektren des Carnegie Institutes für Technologie, Pittsburgh/Pennsylvania, die uns Herr Oberkonservator Dr. R. Dittmeyer an der Frauenklinik der Universität Erlangen-Nürnberg dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt hat, herangezogen.

2.7) Quantitative Analysen

Wir beschränkten uns darauf, die Quantität der flüchtigen Fäulnisstoffe mit herkömmlichen Methoden, u. a. unter Benutzung eines Integrators D 2 von "Perkin-Elmer" gaschromatographisch zu bestimmen. Zur Kontrolle wurden bei alkoholhaltigen Proben auch Untersuchungen nach dem Widmark-Verfahren und der ADH-Methode vorgenommen.

2.8) Bestimmung des Wassergehaltes im Leichenblut

Die postmortale Veränderung des Wassergehaltes von Blut und Leichenteilen beeinflusst bekanntlich die quantitativen Befunde. Von den vielen Möglichkeiten diese Veränderung nachzuweisen (Bestimmung des spezifischen Gewichtes, der Erythrozytenzahl, des Hämatokrit-Wertes und des Hämoglobingehaltes, um nur einige zu nennen), wählten wir eine von AUDRLICKÝ beschriebene einfache Methode zur unmittelbaren Feststellung des Wasseranteiles im Untersuchungsmaterial. Als Streubreite des Verfahrens ergab sich bei uns für den Mittelwert aus drei Einzelbestimmungen ein s von $\pm 0,22\%$ ($N = 102$). Bei Anfall sehr vieler Blutproben wandelten wir

die Methode so ab, daß das in Aluminium-Näpfchen nach WEYRICH eingewogene Material auf Tüpfelplatten gemeinsam in einem größeren Exsikkator, dessen Boden mit Dichromat-schwefelsäurelösung bedeckt war, im Brutschrank bei 60 ° C 24 Stunden getrocknet wurde.

3. ERGEBNISSE

3.1) Gase bei der Leichenfäulnis

Die Entstehung anorganischer Gase (CO_2 , NH_3 , H_2S usw.) bei der Leichenfäulnis als Endprodukte des Kohlenhydrat-Eiweiß- und Fettabbaues und von Methan wurde schon vor langer Zeit aufgeklärt. Sehr eingehende und aufschlußreiche Studien mit tierischem Material über den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration, des Redoxpotentials, der Sauerstoffspannung im Gewebe sowie über die Wirksamkeit von Eigen- und Fremdfermenten auf die Fäulnisgasbildung unter Mitberücksichtigung des Zeitfaktors, wurden von O. SCHMIDT, LORKE, FORSTER und SCHULZ angestellt. Ihre Befunde entsprechen bis auf geringe Abweichungen den von uns bei Fäulnis menschlicher Leichenteile gewonnenen Ergebnissen. So bemerkten wir ebenfalls unter aeroben Bedingungen bereits kurz nach Beginn der Versuche eine kräftige Entwicklung von CO_2 . Der pH-Wert verringerte sich bis auf unter 6 und schlug bei einer Versuchstemperatur von 20°C erst nach etwa 12 Tagen, bei höherer Temperatur (bis 40°C) früher in den alkalischen Bereich um. Dann traten auch NH_3 und H_2S stärker auf. Bei anaeroben Versuchen reagierten die Blutproben zum Teil über Wochen schwach sauer; die Gasbildung blieb gleichfalls gering. Die gaschromatographischen Analysen ergaben weiterhin, daß die Fäulnisgase regelmäßig Stickstoff und zwar nicht nur relativ, sondern auch absolut vermehrt enthielten. Ferner kamen Spuren von Wasserstoff vor, was bereits mehrfach beschrieben worden ist.

In mehreren Blutproben, die bei über 20°C anaerob der Spontanfäulnis überlassen worden waren, konnten nach einigen Tagen vorübergehend geringe Mengen an Kohlenmonoxyd

nachgewiesen werden. Zu Beginn der Versuche war der gaschromatographische CO-Nachweis in den betreffenden Proben negativ gewesen. Eine Bildung von 6 % CO-Hb, wie MARKIEWICZ vor kurzem mitteilte, konnten wir allerdings nicht beobachten. Unsere Werte blieben stets unter 1,5 % CO-Hb.

Der anfängliche Sauerstoffgehalt des Leichenblutes nahm in anaeroben Fäulnisansätzen nur langsam ab. Es dauerte oft 14 Tage bis er sich stärker verringert hatte. Unter raschem Bakterienwachstum sank die Sauerstoffspannung dagegen schneller ab. Bei der Besprechung der Versuche zur Alkoholneubildung (Abschn. 3.2.2) wird darauf zurückgekommen.

Große forensische Bedeutung hatten Untersuchungen des Gasgemisches im Magen-Darmtrakt toter Neugeborener, insbesondere wenn schon merkliche Leichenfäulnis vorlag. Die als Lebenszeichen durchgeführte Schwimmprobe konnte dann nicht mehr als Beweis für das Gelebthaben dienen, weil die Gasfüllung möglicherweise von Fäulnis herrührte. Zur Analyse der Gase gingen wir so vor, daß wir das uneröffnete und an den Enden fest abgebundene Magen-Darmstück nach der Entnahme mit einem Gewicht beschwert unverzüglich in ein wassergefülltes Glas verbrachten, um eine Gasdiffusion zu verhindern. Vor der eigentlichen gaschromatographischen Analyse zogen wir dann unter Wasser 1 ml Gas aus dem Asservat und abschließend zur Füllung der Kanüle etwas Wasser in eine Injektionsspritze auf. Bei den in dieser Weise durchgeführten Untersuchungen von 12 Fällen ließ sich schon aus dem Stickstoff-Sauerstoffverhältnis die Unterscheidung treffen, ob es sich um Fäulnisgase handelte oder ob das Neugeborene vor dem Tode noch geatmet und dabei auch Luft verschluckt hatte. Im ersteren Falle

lag der Sauerstoffgehalt in der Regel weit unter 5 Vol. %. Außerdem kamen im Chromatogramm stets noch Spuren von Wasserstoff und etwas Methan zum Vorschein. Hatte das Neugeborene geatmet, dann betrug das Stickstoff-Sauerstoffverhältnis in den Proben höchstens gering über 80 : 20 Vol. %.

Dieses Verfahren hat sich dann auch zum Sauerstoffnachweis - der mit früheren gasanalytischen Methoden schwierig und sehr zweifelhaft war - bei Luftembolie im Herzen von 5 Leichen bewährt. Das Gas wurde nach Wasserfüllung des Herzbeutels aus dem rechten Vorhof in eine Venüle aufgesaugt. Nachträgliches Eindringen von Luft verhinderten wir wiederum durch Nachsaugen einer geringen Wassermenge und Einstechen der Kanülenspitze in einen Gummistopfen. Mit der Venüle ließ sich schließlich die Gasprobe zur Bestimmung direkt in den Einspritzblock des Gaschromatographen injizieren. Die geringe Restluft des Vakuums der Venüle störte die Untersuchungsergebnisse wegen der großen Probenmenge nicht. Bei Luftembolie fand sich ein Sauerstoffgehalt von über 10 Vol. %, in Fäulnisgasen unter 5 Vol. %.

3.2) Bildung niederer aliphatischer Alkohole

Die von LIBAVIUS 1595 vorgeschlagene Differenzierung zwischen Gärung (Fermentatio) und Fäulnis (Putrefactio) hat sich für die Aufklärung des biochemischen Weges der Alkoholbildung aus organischen Substraten sicher als vorteilhaft erwiesen. Die Abgrenzung beider Vorgänge ging schließlich jedoch so weit, daß man die Entstehung von Alkohol nur im Zusammenhang mit Gärungsprozessen sah und eine Alkoholbildung bei Fäulnis nicht für möglich hielt. Auch WIDMARK bezweifelte letzteres noch und führte die Feststellungen von FORD, BÉCHAMP und LANDSBERG über Äthanolbildung in faulenden Organen auf unspezifische Methodik der Untersuchungen zurück. Aber schon wenige Jahre später war der Nachweis der Bildung von Fäulnisalkohol durch Anwendung besonderer Untersuchungsverfahren (NICLOUX und WEINIG) und dann auch der alkoholspezifischen Ferment-(ADH-) Methode (BÜCHER und REDETZKI sowie BONNICHSEN und THEORELL) erbracht. Es folgten nun zahlreiche kasuistische Mitteilungen und einige Veröffentlichungen über experimentelle Studien zur Frage der Veränderung des Alkoholspiegels in Blut, Harn und Organen von Leichen (siehe ELBEL und SCHLEYER, WEINIG, SCHWERD und LAUTENBACH, GRÜNER). Die Schlußfolgerungen, die in den Arbeiten gezogen wurden, waren sehr unterschiedlich. Einig war man sich letztlich nur darüber, daß bei der Beurteilung von Alkoholbefunden in Leichenmaterial Vorsicht geboten sei.

Über die Art der sich bei Fäulnis bildenden Alkohole bestand noch völlige Unklarheit. Die ersten systematischen Untersuchungen in dieser Richtung unter Anwendung mikrophemischer Verfahren wurden an unserem Institut von SCHWERD, GARHAMMER, STAUBER und WÜSTENDÖRFER durchgeführt. Sie ergaben u. a., daß es sich beim Fäulnisalkohol nicht nur um

Äthanol handelt, sondern daß stets auch Methanol oder niedere aliphatische Alkohole mit mehr als 2 C-Atomen beteiligt sind. Aus dieser Erkenntnis heraus resultierte der Vorschlag, zur Alkoholbestimmung im Leichenblut neben dem Widmark-Verfahren und der ADH-Methode noch die m-Nitrobenzaldehyd-Reaktion zum Nachweis von Fuselalkoholen heranzuziehen.

Als die Gaschromatographie in der analytischen Chemie an Bedeutung gewann, haben wir mit diesem Verfahren die Untersuchungen zur Aufklärung der Natur der Fäulnisalkohole fortgesetzt (WEINIG und LAUTENBACH, WEINIG, SCHWERD und LAUTENBACH). Die dabei zunächst erhaltenen Ergebnisse wurden inzwischen schon von anderen Autoren (MACHATA, OSTERHAUS und JOHANNISMEIER) im wesentlichen bestätigt.

3.2.1) Qualitative Befunde

3.2.1.1) Identifizierung der Fäulnisalkohole

In Einzel- und Reihenuntersuchungen konnten wir massenspektrometrisch nach gaschromatographischer Trennung das Auftreten folgender Alkohole nachweisen:

Methanol	iso-Propanol
Äthanol	sec-Butanol
n-Propanol	iso-Butanol
n-Butanol	iso-Amylalkohol
n-Amylalkohol	

Äthanol kam in allen Proben vor und stellte immer die Hauptfraktion der Fäulnisalkohole dar. Bis auf ganz wenige Ausnahmen war n-Propanol ebenfalls regelmäßig vertreten. Dagegen wurde n-Butanol nur in etwa 40 % der Fälle gefunden. Unter bestimmten Bedingungen (Einzelheiten dazu in Abschn. 3.2.2) lag der Gehalt an n-Propanol über dem von n-Butanol,

in anderen Fällen war das Verhältnis umgekehrt.

OSTERHAUS und JOHANNISMEIER wollen Methylalkohol bei ihren Untersuchungen zur postmortalen Alkoholbildung in nachweisbarer Menge niemals gefunden haben. Im Gegensatz dazu stellten SCHWERD und GARHAMMER mit Hilfe der Chromotrop-säurereaktion ebenso wie einige andere Autoren in Fäulnisproben oft geringe Mengen an Methanol fest. Wir konnten die Befunde, die an unserem Institut früher erhoben worden waren, nunmehr massenspektrometrisch bestätigen. Die negativen Ergebnisse von OSTERHAUS und JOHANNISMEIER finden ihre Erklärung darin, daß sich auch bei unseren Analysen nie eine Methanolbildung von über 0,03 o/oo ergeben hat und daß die gaschromatographische Bestimmung wegen der geringen Empfindlichkeit der meisten Detektoren, besonders des FID gegenüber Methanol in diesem Konzentrationsbereich auf Schwierigkeiten stößt. Das soll folgende Tabelle verdeutlichen, in der für einige Alkohole Korrekturfaktoren bezogen auf Äthanol angegeben sind, die wir bei der Bestimmung gleicher Alkoholgewichtsmengen mit dem FID aus der jeweiligen Anzeige von Peakhöhe und integrierter Peakfläche errechnet haben.

Substanz	Korrekturfaktor (Äthanol = 1)	
	Peakhöhe	Peakfläche
Methanol	7,55	2,84
Äthanol	1	1
iso-Propanol	0,54	0,65
n-Propanol	0,83	0,56
sec-Butanol	0,50	0,38
iso-Butanol	0,64	0,35
n-Butanol	1,07	0,41
iso-Amylalkohol	1,43	0,37

Da die Möglichkeit des Erkennens einer Substanz im Chromatogramm hauptsächlich von der Größe des mV-Schreiberaus-
schlages, also von der Peakhöhe abhängig ist, war somit
die Nachweisempfindlichkeit für Methanol etwa 7,5 mal
schlechter als für Äthanol, bei der massenspektrometrischen
Messung dagegen ungefähr gleich.

Iso- und n-Amylalkohol bildeten sich im Untersuchungsmaterial nur selten und nur in geringer Menge. Ähnlich wie iso-Propanol kamen sie erst bei fortgeschrittener Fäulnis zum Vorschein, worauf später noch eingegangen werden wird. Wesentlich häufiger und höchstens einige Tage nach dem Auftauchen von Äthanol waren auch iso- und sec-Butanol anzutreffen. Ihr Gehalt blieb allerdings stets unter 0,1 o/oo; tert-Butanol konnten wir nicht sicher nachweisen. Das Gaschromatogramm in Abb. 7 gibt einen typischen Befund von Alkoholneubildung wieder. In Abb. 8 ist das Massenspektrum von n-Butanol dargestellt.

Bei den Fäulnisversuchen unter anaeroben Bedingungen kam es vor, daß sich erst bei einer Äthanolbildung von maximal 0,05 o/oo im Gaschromatogramm weitere Alkohole bemerkbar machten. In den aeroben Versuchen waren sie praktisch von Beginn der Äthanolbildung an gleichfalls vorhanden. In alkoholhaltigen Blutproben von Lebenden und im Leichenblut ohne Fäulniszeichen beobachteten wir selbst bei Fällen von Alkoholvergiftung höchstens Spuren (weniger als 0,005 o/oo) von Fuselalkoholen.

3.2.1.2) Bakteriologische Beobachtungen

Die Alkoholbildung im Leichenmaterial ist nicht eine Begleiterscheinung der Autolyse, sondern nach einhelliger Meinung mikrobiell verursacht. Neben Hefen sind zahlreiche Bakterien der Leichenflora dazu befähigt. Über die im Leich-

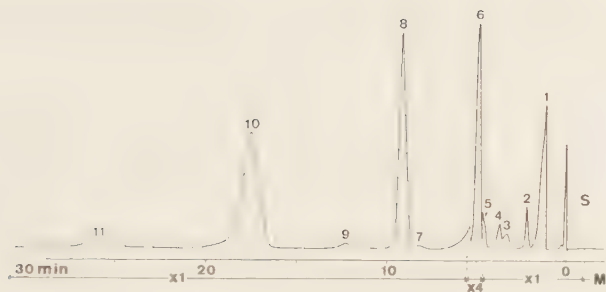


Abb. 7 Typisches Gaschromatogramm von einer Blutprobe mit Fäulnis (S = Start; M = Meßbereich)

1 Acetaldehyd	5 iso-Propanol	9 iso-Butanol
2 Aceton	6 Äthanol	10 n-Butanol
3 Butyraldehyd	7 sec-Butanol	11 Isoamylalkohol
4 Methanol	8 n-Propanol	

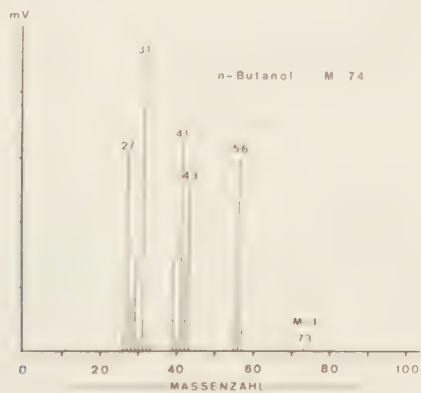


Abb. 8 Massenspektrum des n-Butanols

nam vorkommenden Keime finden sich u. a. bei WALCHER, PESCH, H. J. WAGNER, KRAUS und G. SCHMIDT Zusammenstellungen.

In eigenen Stichproben aus unserem Material wurden von der Staatlich-Bakteriologischen Untersuchungsanstalt Erlangen *) bei orientierenden Untersuchungen folgende Mikroorganismen gefunden; sie sind der Häufigkeit ihres Vorkommens nach geordnet. Die Proben waren mindestens mit drei Keimarten verunreinigt.

Bacterium coli (verschiedene Arten)

Enterococcen

Staphylococcus albus

Streptococcus haemolyticus

Fusobakterien

Keime der *Bacteroides*-Gruppe

grampositive Stäbchen mit Sporenbildung

Bacterium proteus

anaerob wachsende Streptokokken

Sarzine

grampositive Stäbchen und Fäden

In der russischen Forschung, die sich mit der Verwendbarkeit von Leichenblut für Transfusionen befaßt, wurden wohl die umfangreichsten Erfahrungen über postmortale bakterielle Verunreinigungen von Blut gesammelt. Einem Übersichtsreferat russischer Arbeiten von KRAUS ist zu entnehmen, daß mit einer Infektion des Blutes von Unfalltoten bereits nach 6 Stunden in 14,6 %, nach 12 Stunden in 16,9 % und nach 24 Stunden in 55 % der Fälle gerechnet werden kann. Die Keim-

*) Herrn Reg.-Med.-Direktor Dr. med. F. LEGLER sagen wir für die Vornahme dieser Untersuchungen unseren besten Dank.

besiedelung der Leiche geschieht offensichtlich vom Magen-Darmkanal, von den Atemwegen und anderen Körperöffnungen, z. B. offenen Verletzungen aus und benutzt hauptsächlich den Blutweg (WALCHER). Sie kann jedoch auch bei Todeseintritt schon vollzogen sein, etwa im Falle einer vitalen oder agonalen Bakteriämie und beim Ertrinkungstod.

Wenn man von den letztgenannten Beispielen absieht, dann ist zu erwarten, daß die Alkoholbildung nicht im gesamten Leichnam gleichzeitig einsetzt, sondern in denjenigen Abschnitten bevorzugt beginnt, welche normalerweise Bakterien enthalten oder bald damit durchsetzt werden. Bei unseren Untersuchungen waren das: der Magen-Darminhalt, Ergüsse in Brust- und Bauchhöhle, Harn sowie Blut aus den Lungen, der Pfortader, der unteren und oberen Hohlvene und aus dem rechten Herzen. Überraschend war die Beobachtung, daß im Harn signifikant häufiger und teilweise auch mehr Fäulnisalkohole auftraten, als im gleichzeitig entnommenen Blut aus Oberschenkelvenen. SCHWERD hatte bei Einzelbeobachtungen im Harn keine Alkoholneubildung gefunden. Es ist also generell nicht mehr zu empfehlen, die Alkoholwerte im Leichenblut nach Widmark- und ADH-Verfahren unter Bezug auf das Ergebnis der Harnalkoholbestimmung zu beurteilen.

Die Alkoholbildung, welche sich nach dem Tode im Magen-Darminhalt vollzieht, weicht von dem im vorigen Abschnitt dargelegten Schema qualitativ und besonders quantitativ meist erheblich ab. Es nehmen hier vor allem die C_5 -Alkohole eine bevorzugte Stellung unter den Fuselalkoholen ein. Zweifellos ist das ein substratbedingter Effekt. Ansonsten haben wir keine eindeutigen Unterschiede bei der Alkoholbildung im Blut, Gewebe, in Organteilen und auch nicht im Harn eruieren können. Spezielle Untersuchungen über die von Bakterien genutzten C-Quellen, über die beteiligten

Fermentsysteme usw., denen Art und Menge der Fäulnisalkohole zuzuschreiben sind, wurden von uns nicht durchgeführt (siehe dazu KRETZSCHMAR, JÖRGENSEN, BERNHAUER, REHM und die Handbücher der Bakteriologie und physiologischen Chemie).

Auf einen Umstand, der die Entstehung von Fäulnisalkoholen entscheidend mitbeeinflußt, muß noch kurz aufmerksam gemacht werden. Fäulnisalkohole bilden sich nicht nur im Leichnam, sondern auch in vitro. Ihre Bildung kann sich also in einer entnommenen Probe fortsetzen oder erst beginnen, letzteres sogar besonders häufig, weil die Entnahme von Leichenmaterial in der forensischen Praxis praktisch nie unter sterilen Bedingungen erfolgt und die Proben oft viele Tage unterwegs sind, bis sie bei der Untersuchungsstelle eintreffen. Diese Neubildung in vitro läßt sich jedoch durch Zusatz von Natriumfluorid (SCHWERT) oder Merthiolat - C_9H_9HgNaS - (TRAJANOWSKA) in einfacher Weise unterbinden.

3.2.2) Quantitative Befunde

Über die Häufigkeit von Alkoholneubildung in Leichenblutproben soll die folgende Tabelle orientieren:

Jahr	Einsendungen	Alkoholneubildung		% - Anteil positiver Fälle
		positiv	negativ	
1962	155	29	126	18,7
1963	252	41	211	16,3
1964	260	29	231	11,2
1965	281	37	244	13,2
1966	301	36	265	12,0
1967	435	65	370	14,9
gesamt: 1684		237	1447	14,1

Der relativ hohe Anteil positiver Fälle im Jahre 1962 geht sehr wahrscheinlich darauf zurück, daß die Blutproben damals oft erst anderen Untersuchungsstellen zugeschickt worden waren, wodurch besonders viel Zeit zwischen Blutentnahme und unseren Untersuchungen verstrichen ist. Außerdem war die Entnahme und Asservierung des Blutes häufig fehlerhaft, was sich erst auf Grund von Richtlinien über die Sicherung von Leichenblut, die wir daraufhin aufstellten, besserte.

Einige Faktoren, die die Alkoholneubildung beeinflussen, lassen sich aus der Aufgliederung der positiven Fälle des Jahres 1967 ableiten.

1967	Blutproben mit Alkoholneubildung (I)	Hauptkomponente der n-Propanol (II)	Fuselalkohole n-Butanol (III)
Januar	5	1	4
Februar	4		4
März	4	1	3
April	1	1	
Mai	4	1	3
Juni	10	7	3
Juli	6	5	1
August	10	6	4
September	7	6	1
Oktober	6	4	2
November	6	3	3
Dezember	2	1	1
gesamt:	65	36	29

Wegen der Temperaturabhängigkeit des mikrobiellen Wachstums war ein gehäuftes Auftreten positiver Fälle während der

wärmeren Jahreszeit zu erwarten. Die Zahlen der Rubrik (I) spiegeln den jahreszeitlichen Temperaturgang aber nur annähernd wieder. Bei der Suche nach einer Erklärung für den geringen Zusammenhang stießen wir schließlich auf die Feststellung, daß die Fälle mit Überwiegen von n-Propanol (II) gut mit den Temperaturverhältnissen übereinstimmten, während diejenigen, deren Hauptkomponente aus n-Butanol bestand (III), ziemlich gleichmäßig über das Jahr verteilt waren.

Die Aufgliederung trug noch zu weiteren Erkenntnissen bei, wie sich aus dem Folgenden ergibt:

Füllung des Probegläschens	Hauptkomponente der Fuselalkohole	
	n-Propanol (II)	n-Butanol (III)
über die Hälfte	34	6
weniger als die Hälfte	2	23
gesamt:	36	29

In den Blutproben, die neben Äthanol hauptsächlich n-Propanol enthielten, befand sich also nur wenig, in den anderen viel Luft. Unter den 6 Fällen in Rubrik (III), mit umgekehrtem Verhalten, handelte es sich um drei Blutproben von Wasserleichen und eine Probe, die man in einem anderen Institut aus einem größeren Gefäß in ein Venüलगläschen umgefüllt hatte; die beiden anderen stammten von Unfalltoten.

Auch hinsichtlich der Zeitspanne zwischen Todeseintritt und Blutentnahme war eine augenfällige Differenz nachzuweisen. Im Mittel betrug sie bei den Fällen der Rubrik (II) 31 Stunden und bei denen der Rubrik (III) nur 7 Stunden.

Alle diese Befunde stimmen sehr gut mit den noch zu besprechenden Ergebnissen der Versuchsreihen unter aeroben und anaeroben Bedingungen überein. Auf die Besonderheit, daß sich im Blut von Wasserleichen viel n-Butanol entwickelt, haben wir schon früher aufmerksam gemacht (WEINIG und LAUTENBACH). Inzwischen haben wir bei Ertrunkenen mit postmortaler Alkoholneubildung im Blut (17 Fälle) nur einmal ein geringes Überwiegen von n-Propanol gefunden. Sonst stand unter den gebildeten Fuselalkoholen stets n-Butanol im Vordergrund.

Zur Veranschaulichung der Neubildung primärer Alkohole bei Fäulnis haben wir aus den zahlreichen Reihenversuchen die Ergebnisse eines repräsentativen Experimentes, das mit alkoholfreiem Blut (von einer Leiche stammend) unter aeroben und anaeroben Bedingungen bei $+ 4^{\circ}$, 12° , 22° , 30° und 40° C durchgeführt wurde, in Abb. 9 - 14 aufgezeichnet. Die Befunde der bei $+ 4^{\circ}$ C und 12° C angesetzten Proben, kamen nicht zur Darstellung, weil die Alkoholbildung dabei mit Ausnahme des bei 12° C anaerob inkubierten Blutes nur gering war (etwa vergleichbar den Befunden im aeroben Ansatz bei 20° C) und erst nach Wochen einsetzte. Die Kurven spiegeln den regelmäßig beobachteten Unterschied zwischen aerober und anaerober Fäulnisalkoholbildung wieder. Als kennzeichnend für die aerobe Verlaufsform hat sich ein besonders hoher Anteil von n-Butanol unter den Fuselalkoholen, ein steiler Anstieg, aber andererseits auch eine relativ rasche Rückbildung der primären Alkohole und, was in den Abbildungen übersichtshalber weggelassen wurde, eine Beteiligung vieler weiterer flüchtiger Fäulnisstoffe erwiesen. In primär alkoholhaltigen Blutproben, bei denen die Alkoholneubildung weder qualitativ noch quantitativ von dem gegebenen Schema abwich, setzte sich die Abnahme

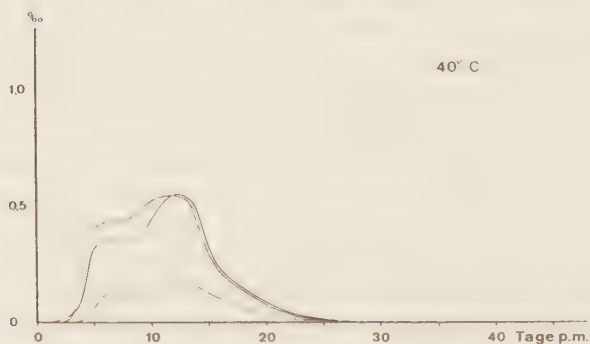
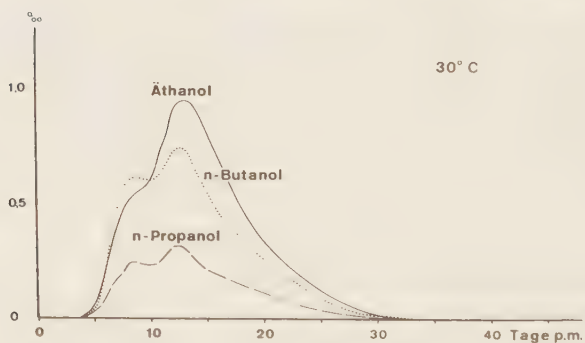
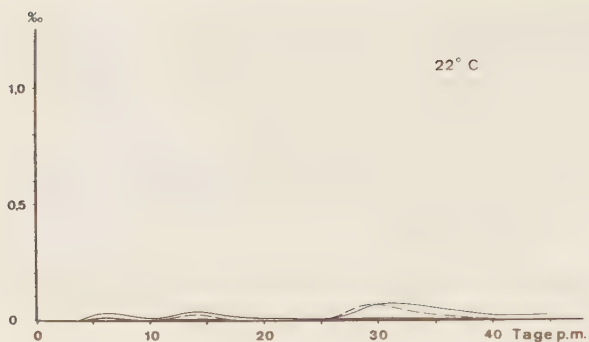


Abb. 9 - 11

Beispiele zur Bildung primärer Alkohole bei Spontanfäulnis von Leichenblut aus einer aeroben Versuchsreihe bei 22 °, 30 ° und 40 ° C

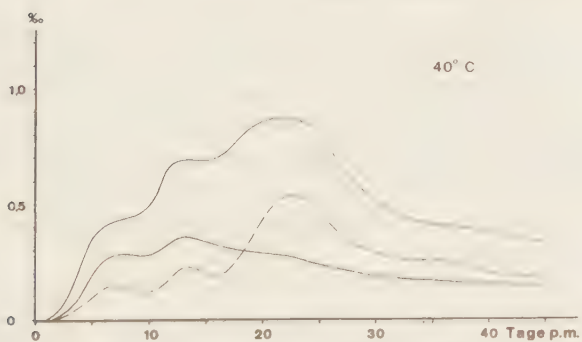
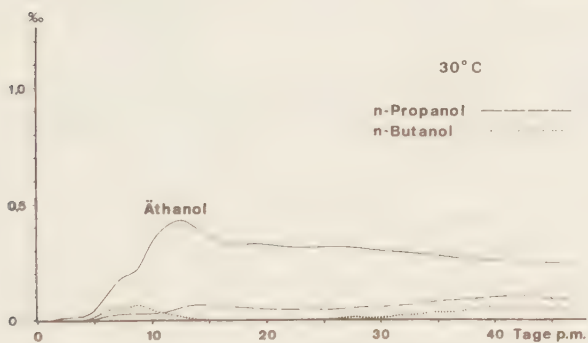
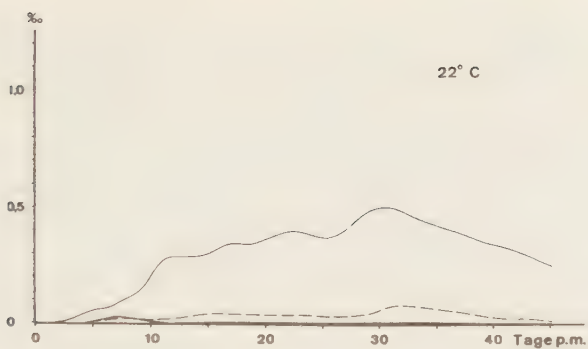


Abb. 12 - 14 Die Bildung primärer Alkohole in der gleichen Probe von Leichenblut (vergl. Abb. 9 - 11), aber unter anaeroben Bedingungen

des Äthanolspiegels so lange fort, bis das Blut schließlich nach einigen Wochen alkoholfrei war. Die Beurteilung über die Höhe der ursprünglichen Blutalkoholkonzentration wird dadurch bei Einzeluntersuchungen erschwert; denn der Ausgangswert an Äthanol kann im Zeitpunkt der Bestimmung schon unterschritten gewesen sein. Einen Anhaltspunkt dafür, welcher Abschnitt der Fäulnis-kurve in solchen Fällen jeweils vorliegt, liefert nach unseren Feststellungen der Nachweis von iso-Propanol. Iso-Propanol tritt nämlich erst dann in nennenswerter Menge auf, wenn sich die primären Alkohole bereits im Maximumbereich der Neubildung befinden. Je größer sein fäulnisbedingter Gehalt also in einer Blutprobe ist, desto vorsichtiger wird man bei der Rückführung der ermittelten Alkoholwerte auf den Zeitpunkt des Todeseintrittes vorgehen müssen.

Der Einfluß der Temperatur auf die Alkoholneubildung ist, wie auch die Abbildungen 9 - 11 erkennen lassen, bei den aeroben Fäulnisversuchen immer besonders groß gewesen. Beachtenswert ist die Tatsache, daß sich unter aeroben Bedingungen bei einer Temperatur von ca. 20 ° C und darunter stets nur Spuren von Fäulnisalkoholen entwickelten. Diesem Umstand ist es offensichtlich zuzuschreiben, daß SCHWERD und GARHAMMER in den nur bei Zimmertemperatur vorgenommenen Versuchen in Blutproben, die unter einer größeren Luftsäule in Gläsern aufbewahrt worden waren, keine wesentliche Alkoholneubildung gefunden haben, während das Blut in weitgehend gefüllten Behältnissen bald Alkohole enthielt.

Überraschend war die gute Übereinstimmung der aeroben Versuchsergebnisse mit dem Fäulnisalkoholbild, das sich im Blut von Wasserleichen nachweisen ließ. Vor Durchführung

der systematischen Reihenversuche hatten wir vermutet, daß die Entstehung des hohen n-Butanolgehaltes nach Ertrinkungstod mit der Besiedelung einer besonderen, hauptsächlich an Sauerstoffmangel angepaßten Keimflora in der Wasserleiche ursächlich zusammenhängt. Es gelang uns aber weder im Blut, dem wir Flußwasser zusetzten, noch im Flußwasser selbst, mit und ohne Glucosezusatz unter anaeroben Verhältnissen eine qualitativ ähnliche Alkoholneubildung zu erzielen. Es ist deshalb noch nicht möglich, dieses Phänomen der Alkoholneubildung bei Wasserleichen verbindlich zu erklären.

Zur Charakterisierung der anaeroben Versuchsergebnisse (vergl. Abb. 12 - 14) ist zu sagen, daß bei ihnen das Übergewicht der Neubildung eindeutig beim Äthanol lag, n-Propanol in weit geringerer Menge aber gleichfalls regelmäßig vorkam und daß n-Butanol und andere Alkohole lediglich sporadisch in Erscheinung traten. Auf den Unterschied zur aeroben Fäulnis bei niedrigeren Temperaturen wurde schon eingegangen. Die Fäulnisalkoholwerte stiegen langsam an. In ihrem weiteren Kurvenverlauf prägte sich nicht ein zeitlich begrenzter Gipfel aus, sondern ein oft über Monate annähernd gleichbleibendes Plateau. Die auch bei den aeroben Untersuchungen vorkommenden Konzentrationsschwankungen ließen sich nur zum Teil durch die Streubreite der Bestimmungen erklären, zum Teil sind sie wahrscheinlich durch unterschiedliche mikrobielle Wachstumskinetik bedingt.

OSTERHAUS und JOHANNSMEIERS stellten die Behauptung auf, "daß die ADH-Werte mit den gaschromatographischen Äthylalkoholwerten auch dann übereinstimmen, wenn im Blut Fäulnisalkohole sind". Das trifft nicht zu. Das ADH-Verfahren ist zwar alkoholspezifisch, erfaßt aber neben

Äthanol noch einige andere Alkohole und zwar gerade die, welche bei der Fäulnis eine Rolle spielen (WEINIG, LAUTENBACH und G. SCHMIDT, dort weitere Literatur zur Spezifität der ADH-Methode).

3.2.3) Beurteilung der Alkoholbefunde im Leichenblut

Das Ende der Lebensvorgänge bringt auch die normale Resorption, Verteilung und Elimination des Alkohols zum Erliegen. Deshalb bleibt der Blutalkoholgehalt nach Eintritt des Todes zunächst konstant. Schon bald kommt es jedoch zu einem Absinken der Werte, worauf bereits SJÖVALL und WIDMARK auf Grund tierexperimenteller Beobachtungen aufmerksam machten. Nach K. WAGNER kann das Alkoholdefizit im menschlichen Leichenblut in den ersten Tagen post mortem 20 % und mehr betragen. Dieses Absinken des Alkoholspiegels ist im wesentlichen eine Folge der Hypostase und verläuft proportional zur Wasserverarmung in den Blutgefäßen (AUDRLICKY).

Wir konnten die Befunde von AUDRLICKY bestätigen. Zusätzlich stellten wir uns aber noch die Frage, ob eine Beziehung zwischen der Veränderung des Wassergehaltes und der Todeszeit besteht. Tatsächlich ergab sich ein Zusammenhang, wie die Kurve der Mittelwerte in Abb. 15 beweist, deren Berechnung sich auf die Untersuchung von 284 Leichenblutproben aus Oberschenkelvenen stützt. Die Differenz der Einzelergebnisse zu den Mittelwerten war teilweise allerdings erheblich, so daß sich für die ersten Stunden post mortem schon eine Standardabweichung von ca. $\pm 2,4$ Gew. % und bei später Entnahme des Blutes (z. B. 50 Std. p. m.) sogar eine solche von $\pm 3,2$ Gew. % ergab. *)

*) Für die Durchführung der statistischen Berechnungen sage ich hiermit Herrn Dr. H. Ammon und Herrn M. Schobert vom Pharmakologischen Institut der Universität (Vorstand: Herr Prof. Dr. F. Heim) meinen besten Dank.

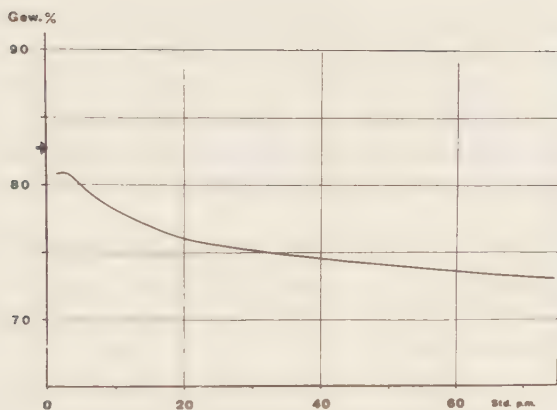


Abb. 15 Der Wassergehalt im Leichenblut aus Oberschenkelvenen. Die Kurve ergab sich aus den Mittelwerten der Untersuchung von 284 Blutproben.

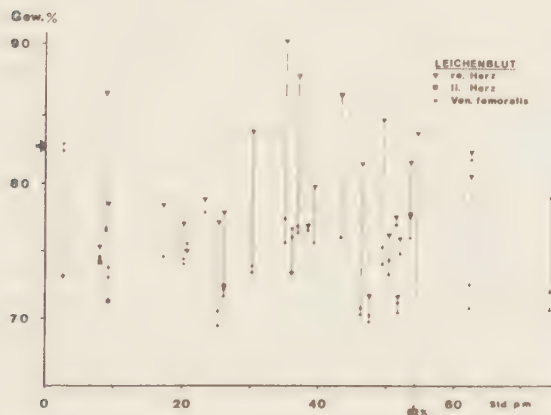


Abb. 16 Zur Differenz des Wassergehaltes im Herz- und Oberschenkelvenenblut von Leichen. Der Pfeil in Abb. 15 und 16 markiert den Wassergehalt im Vollblut des Lebenden - im Mittel 82,75 % -, der sich bei unseren Bestimmungen feststellen ließ.

Bei der Alkoholbeurteilung des Einzelfalles läßt sich somit künftig die Messung des Wassergehaltes der Probe nicht umgehen. Die bisherigen Befunde sprechen im übrigen dafür, daß der relativ niedrige Anfang der Mittelwertkurve (vergl. Abb. 15) nach Todeseintritt durch eine bereits agonal einsetzende Bluteindickung bei längerem Überleben eines schweren Traumas bedingt ist.

Beim Vergleich des Wassergehaltes im Leichenblut von verschiedenen Entnahmestellen wichen an sich nur die im Blut aus dem rechten Herzen ermittelten Werte von den übrigen Ergebnissen häufig stark ab (siehe Abb. 16). In einem Falle, bei dem eine negative Differenz, d. h. ein Überwiegen der Eindickung des Herzblutes resultierte, war diese ohne ernstlichen Zweifel auf die Todesursache, eine traumatische Herzruptur, zurückzuführen. Die größte positive Abweichung, die wir registrierten, betrug ca. 20 Gew. % (Wassergehalt im Blut des rechten Herzens 83,78 % und in dem der Oberschenkelvenen 62,24 % bzw. 62,88 %); die Todesursache war eine infektiös-toxische Leberinsuffizienz. Auch in allen übrigen Fällen mit positiver Differenz (höherer Wassergehalt im rechten Herzen) hatte eine längere Agonie vorgelegen, während wir beim plötzlichen Tod (Eisenbahnüberfahung, Erschießen, gewaltsames Ersticken, Ruptur der Art. basialis usw.) nur geringe Unterschiede in sämtlichen Proben beobachteten. Der Grund dafür, weshalb wir diesen Untersuchungen besondere Aufmerksamkeit schenkten, war die Vermutung, daß die Bestimmung des Wassergehaltes im Leichenblut mit dazu beitragen kann, viele, scheinbar unvereinbare Feststellungen anderer Autoren über die Verteilung des Alkoholes im Leichnam zu erklären.

Im Leichenblut, das steril bleibt und verschlossen auf-

bewahrt wird, sinkt der Alkoholgehalt ähnlich wie in einer nicht infizierten Blutprobe vom Lebenden nach der Formel von KRAULAND, VIDIC und FREUDENBERG langsam ab. Bei Keimbeseidelung hängt das weitere Verhalten des Alkoholspiegels wesentlich von der Art der mikrobiellen Verunreinigung ab. Überwiegen Bakterien, die in der Lage sind, Alkohol zu veratmen, wird es schneller zum Alkoholschwund kommen. Auch hierbei sind die Verhältnisse mit Veränderungen während der Lagerung von Blutproben Lebender vergleichbar (GEHM und SCHMID, TIESS, SCHWERD, DIMMLING und KRES sowie GRÜNER).

Zur Alkoholneubildung wurde schon ausführlich Stellung genommen. Deshalb soll abschließend nur noch kurz darauf eingegangen werden, wie man aus dem Gaschromatogramm die postmortale Erhöhung einer bei Todeseintritt vorhandenen Blutalkoholkonzentration ermitteln kann. Dem Versuch zur Berechnung der Alkoholneubildung ging die Feststellung voraus, daß die Entstehung von Fäulnisalkoholen in menschlichen Leichenteilen trotz der Vielzahl beteiligter Mikroorganismen gewisse Gleichförmigkeiten zeigt. Es könnte hier der Einwand erhoben werden, daß wir zu dieser Schlußfolgerung gelangten, weil das Untersuchungsmaterial von uns unbemerkt mit einer konstanten Mischflora infiziert worden ist. Dem kann man entgegenhalten, daß die Alkoholneubildung im eingesandten Material, insbesondere in den vielen Proben von Leichenblut aus fast ganz Bayern ebenfalls unserem Fäulnischema weitgehend entsprach. Mit der folgenden Formel ließ sich schließlich die Äthanolneubildung in guter Näherung bestimmen:

$$x = F (P + B)$$

Es bedeuten:

- x Peakhöhe des neugebildeten Äthanol im Gaschromatogramm
- P Peakhöhe des n-Propanols und
- B Peakhöhe des n-Butanols; beide zum Ausgleich des Größenunterschiedes der Zacken bei gleicher Gewichtsmenge der Stoffe mit dem jeweiligen Ausgleichsfaktor (bezogen auf Äthanol = 1) multipliziert
- F ein Korrekturfaktor, welcher der Abb. 17 zu entnehmen ist.

3.3). Aceton

Gaschromatographisch ist der Gehalt an Aceton im Blut und Harn gut bestimmbar. Als Mittelwerte ergaben sich bei unseren Untersuchungen von Proben Lebender ebenso wie im Leichenmaterial normalerweise im Blut 0,23 mg %, im Harn etwa 0,3 mg %. Die Schwankungsbreite des Acetonspiegels war aber schon beim Gesunden, insbesondere bei Jugendlichen, recht erheblich, so daß auch das Dreifache der angegebenen Werte noch nicht als abnorm angesehen werden konnte. Bei einigen Fällen von Diabetes, die in unserem Sektionsgut vorkamen, sahen wir eine Blutkonzentration bis 80 mg %. Weitere Steigerungen des Acetongehaltes wurden u. a. bei Vergiftungen mit Methanol und iso-Propanol, nach protrahierter tödlicher CO-Einatemung und bei Hungertod beobachtet. Aber auch in Fäulnisproben mit zunächst unauffälligen Acetonwerten kamen Anstiege vor. OSTERHAUS und JOHANNSMAYER haben darüber bereits berichtet. In den von uns durchgeführten Reihenversuchen zum Studium der Spontanfäulnis nahm die Acetonkonzentration allerdings erst nach ein bis zwei Wochen zu.

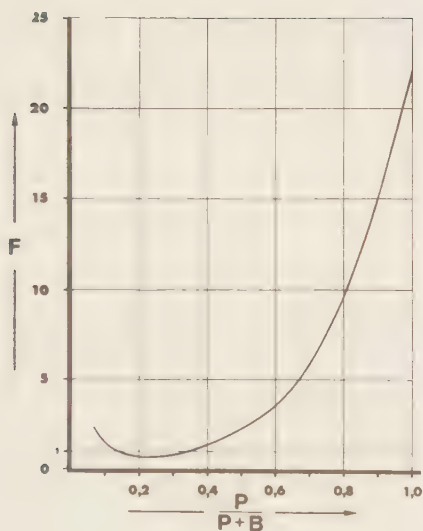


Abb. 17 Kurve zur Bestimmung des Korrekturfaktors F für die Berechnung der Äthanolneubildung bei Fäulnis mittels der gaschromatographisch ermittelten Werte von n-Propanol und n-Butanol

Regelmäßig trat gleichzeitig iso-Propanol auf. Die Kurven beider Stoffe erhöhten sich in den aeroben Fäulnisproben noch, wenn diejenigen der neugebildeten primären Alkohole bereits rückläufig waren. Der höchste fäulnisbedingte Acetonwert, den wir bei den Versuchen festgestellt haben, betrug 3,7 mg %. Der Gehalt an iso-Propanol lag in diesem Falle bei 4,3 mg %.

3.4) Aldehyde

Die Bildung von Formaldehyd konnte gaschromatographisch nicht nachgewiesen werden, da dieser Stoff wegen seiner großen Polymerisations- und Additionsneigung mit der Füllung der Trennsäulen reagiert. SPECHT hat sie mit anderer Methodik in Fäulnisversuchen (maximal 57 mg o/oo) bestätigen können. Dagegen gelang uns der Nachweis der Neubildung von Acetaldehyd, n-Propionaldehyd, n-Butyraldehyd, Isobutyraldehyd und Isovaleraldehyd. Diese Stoffe waren in den Fäulnisproben, wenn man vom Acetaldehyd absieht, jedoch höchstens in gerade erfaßbaren Spuren vertreten.

Bei FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ findet sich der Hinweis, daß im Blut üblicherweise 0,32 - 0,5 mg % Acetaldehyd vorkommen; im Handbuch der physiologischen- und pathologisch-chemischen Analyse von HOPPE-SEYLER/THIERFELDER beziffert DIMROTH den Normalgehalt sogar mit 2 - 10 mg %, wovon mindestens 90 % in irgendeiner noch unbekannten Weise in den Erythrocyten gebunden sei. Wir haben in alkoholfreien Blutproben nur Spuren von weniger als 0,01 mg % Acetaldehyd gefunden. Wenn etwas Äthanol in der Probe vorhanden war, dann entsprach der Acetaldehydspiegel etwa den von FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ mitgeteilten Werten. Dieser Befund konnte aber nur im Vollblut und nicht im alkoholhaltigen Serum, auch nicht im Harn oder Liquor erhoben werden.

Deshalb vermuteten wir, daß der Acetaldehyd den Erythrozyten angelagert ist. In weiteren Versuchen ergab sich, daß das Auftreten von Acetaldehyd im alkoholhaltigen Vollblut nach Zusatz einer Spur von HCN unterblieb. Es handelte sich also offensichtlich um eine an die Erythrozyten gebundene fermentative Umwandlung, bei der sich aus Äthanol Acetaldehyd bildete. Durch Verlängerung der Inkubationszeit der Vollblutproben zur "head-space"-Gasanalyse im Brutschrank (60°C) nahm der Acetaldehydspiegel tatsächlich auch zu, verminderte sich aber im Ansatz mit Erreichen eines Maximums nach ca. 12 Std. wieder zusehens. Da wir früher beim Ansatz der Dampfphasenanalyse auf die Zeit der Probenvorbereitung im Brutschrank nicht genau geachtet hatten, sondern nur eine Mindestverweildauer einhielten, waren die zunächst gewonnenen Ergebnisse zum Acetaldehydnachweis nicht mehr verwertbar. Später setzten wir die Probenvorbereitung auf 30 Minuten fest. Nun ergaben sich vergleichbare Befunde. Es konnte jetzt beobachtet werden, daß zu Beginn der Fäulnis von Blut stets geringe Mengen Acetaldehyd entstehen, selbst wenn eine anschließende Neubildung von Äthanol ausblieb.

3.5) Bildung weiterer flüchtiger Fäulnisstoffe

Folgende Stoffe wurden lediglich in Spuren und meist auch nur in einzelnen Fäulnisproben gefunden:

Amine: Methyl-, Äthyl-, Propyl- und Butylamin
Trimethylamin

Mercaptane: Methyl- und Äthylmercaptan

Ester: Äthylformiat
Äthyl- und Isobutylacetat

4. ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE

Der Nachweis vieler flüchtiger Gifte in der forensischen Toxikologie ließ sich früher nicht oder nur mit erheblichem Arbeitsaufwand und häufig auch nicht spezifisch führen. Fehlerhafte Schlußfolgerungen blieben deshalb nicht aus. Diese Lücke in der Analytik versprach die Gaschromatographie, besonders in Verbindung mit der Massenspektrometrie zu schließen. Bevor diese Methoden aber zur Untersuchung biologischer Substrate herangezogen werden konnten, mußten u. a. Verfahren zur Probenvorbereitung, zur Anreicherung von Spurenstoffen und nicht zuletzt auch Wege zur eigentlichen gaschromatographischen Trennung von Stoffen in sehr verdünnten wässrigen Lösungen entwickelt werden. Anknüpfend an unsere ersten Versuche auf diesem Gebiet sind in der vorliegenden Arbeit folgende Voraussetzungen dafür geschaffen und praktische Ergebnisse erzielt worden:

Das Problem der Anreicherung wurde durch Einführung eines einfachen Mikrodestillations-Verfahrens gelöst (vergl. Abb. 2), das es gestattete, auch in gaschromatographischen Geräten mit geringer Detektionsempfindlichkeit noch Konzentrationen von 0,01 o/oo Äthanol qualitativ und unter Bezug auf einen inneren Standard auch mit nur geringer Fehlerbreite quantitativ nachzuweisen.

Die Spurenanalyse von Halogenkohlenwasserstoffen in biologischem Material verbesserten wir durch Einführung einer extraktiven Destillationsmethode mit Zusatz von n-Pentan zur Probe.

Für orientierende Untersuchungen über den Gehalt an flüch-

tigen Stoffen in Leichenteilen wurde ein Direktanschluß des Probengefäßes an das Gaseinlaßsystem des Fraktometers hergestellt. Damit konnten wir uns durch unmittelbare Entnahme der Dampfphase über der Probe einen Überblick über Art und Menge der vorhandenen flüchtigen Stoffe verschaffen.

Die Untersuchung von wässrigen Lösungen mit Komponenten, deren gaschromatographische Bestimmung der große Wasser-peak vereitelt, war nach Vorschaltung einer Glycerin-Säule vor die eigentliche Trennsäule möglich. Die Elution des Wassers ließ sich durch die Länge der Vorsäule wahlweise verzögern.

Zum Bestimmen von Blutgasen konstruierten wir die in Abb. 3 wiedergegebene Reaktions- und Einlaßvorrichtung. Sie eignete sich besonders zum gaschromatographischen Nachweis von Kohlenmonoxyd im Blut. Mit diesem Gerät stellten wir später bei Fäulnis die Bildung von Kohlenmonoxyd bis zu Mengen entsprechend 1,5 % CO-Hb fest.

Um systematische Fäulnisversuche mit möglichst einheitlichem Substrat bei verschiedenen Temperaturen unter aeroben und anaeroben Bedingungen vornehmen zu können, mußten Behältnisse zur Aufnahme der Proben angefertigt werden. Besonders für die anaeroben Ansätze kamen nur Gefäße in Betracht, welche sich dem bei jeder Probenahme geringeren werdenden Ansatzvolumen anpassen und auch die Druckverhältnisse der Fäulnisgasbildung ausgleichen (vergl. Abb. 1).

Ein weiteres Problem stellte die Art der Koppelung unseres Gaschromatographen an das Massenspektrometer dar. Das vorhandene Verbindungssystem (Abb. 5) war für die massenspektrometrische Registrierung von Spurenstoffen nicht geeignet.

Wir entwickelten deshalb für unsere Geräte eine Direktkoppelung (Abb. 6). Dadurch ließ sich die Nachweisempfindlichkeit des Äthanols von 0,2 o/oo auf 0,001 o/oo verbessern.

Nunmehr waren wir in der Lage, die bei Fäulnis in Leichenteilen auftretenden flüchtigen Fäulnisstoffe massenspektrometrisch zu identifizieren.

Für die gaschromatographischen und massenspektrometrischen Untersuchungen standen uns 1684 Proben mit Leichenblut für Einzelbestimmungen zur Verfügung. Außerdem wurden zahlreiche Reihenversuche zum Studium der Spontanfäulnis mit Leichenblut, Harn und menschlichen Leichenteilen durchgeführt.

In den Blutproben ließ sich in 14,1 % der Fälle Alkoholneubildung feststellen. Beim Vergleich der Ergebnisse der Einzeluntersuchungen und Reihenversuche wurden u. a. der Einfluß der Temperatur und der Luftfüllung über der Blutprobe auf Art und Menge der Alkoholneubildung studiert (vergl. Abb. 11 - 14).

Schließlich gelang es auch, eine Formel für die Berechnung der Höhe der Äthanolneubildung aus den gaschromatographischen Daten von n-Propanol und n-Butanol anzugeben. Neben diesen Alkoholen fanden sich noch Methanol, iso-Propanol, sec- und iso-Butanol sowie iso- und n-Amyl-alkohol.

Messungen des Wassergehaltes im Leichenblut aus Oberschenkelvenen und aus dem rechten Herzen ergaben interessante Zusammenhänge über die postmortale Wasserverarmung des Blutes, die eine Verminderung des Alkoholspiegels nach dem Tod verursacht. Die erstmalige Feststellung erheblicher

Differenzen des Wassergehaltes im Schenkelvenen- und Herzblut trägt mit dazu bei, Mißverständnisse über die Verteilung des Alkohols im Leichnam aufzuklären.

Die Neubildung von Aceton im Fäulnisblut setzte frühestens eine Woche nach dem Tode ein. Es fanden sich Konzentrationserhöhungen bis 3,7 mg %. Mit dem fäulnisbedingten Auftreten von Aceton stand stets eine Bildung von iso-Propanol in Zusammenhang.

Weiterhin konnte der Nachweis der Bildung von Acetaldehyd, n-Propion-, n-Butyr- und Isobutyraldehyd, Methyl-, Äthyl-, Propyl- und Butylamin sowie Trimethylamin, Methyl- und Äthylmercaptan, Äthylformiat, Äthyl- und Isobutylacetat erbracht werden.

Mit den Untersuchungsergebnissen wurde die Grundlage dafür geschaffen, bei toxikologischen Analysen von Leichenteilen flüchtige Fäulnisverbindungen von Fremdstoffen abzugrenzen. Darüberhinaus ist ein gaschromatographisches Verfahren entwickelt worden, das auch noch bei stärkerer Leichenfäulnis die Feststellung einer Luftembolie und den Nachweis des Gelebthabens bei Kindestötung ermöglicht.

LITERATURVERZEICHNIS

AUDRLICKÝ, I.:

Die Abhängigkeit des Alkoholspiegels im Leichenblut vom verschiedenen Wassergehalt im untersuchten Material.
Blutalkohol 2, 169 (1965).

BAUER, H., und H. MOLL:

Die organische Analyse. 4. Auflage.

Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Portig KG,
Leipzig 1960.

BAYER, E.:

Gas-Chromatographie.

Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1959.

BÉCHAMP, J.:

Sur la présence de l'alcool dans les tissus animaux pendant la vie et après la mort dans le cas de putréfaction, au point de vue physiologique et toxicologique.

C. R. Acad. Sci. (Paris) 89, 573 (1879).

BERNHAEUER, K.:

Gärungsschemisches Praktikum. 2. Aufl.

Springer-Verlag, Berlin 1939.

BOBER, H.:

Die gaschromatographische Bestimmung von Alkoholen im Blut nach der Methode der Zweikolonnentechnik.

Beckman-Report 2, 3 (1964).

BONNICHSEN, R., and M. LINTURI:

Gas chromatographic determination of some volatile compounds in urine.

Acta chem. Scand. 16, 1289 (1962).

BONNICHSEN, R. K., and H. THEORELL:

An enzymic method for the microdetermination of ethyl alcohol.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 2, 58 (1951).

BRAHM-VOGELSANGER, A., und H. J. WAGNER:

Gaschromatographische Direktuntersuchung biologischen Materials.
Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 55, 137 (1964).

BRUNNÉE, C., L. JENCKEL und K. KRONENBERGER:

Fortschritte in der Anwendung von Massenspektrometern als
spezifisch anzeigende Ionisationsdetektoren für die Gas-
chromatographie.

Z. anal. Chem. 197, 42 (1963).

BRUNNÉE, C., und H. VOSHAGE:

Massenspektrometrie.

Karl Thieme Verlag, München 1964.

BÜCHER, Th., und H. REDETZKI:

Eine spezifische photometrische Bestimmung von Äthylalkohol
auf fermentativem Wege.

Klin. Wschr. 29, 615 (1951).

BURCHFIELD, H. P., and E. E. STORRS:

Biochemical applications of gaschromatography.

Academic Press, New York and London 1962.

CADMAN, W. J.:

The application of gas chromatography in forensic science.
Methods of forensic science 2, 127 (1963).

CADMAN, W. J., and T. JOHNS:

Application of the gas chromatograph in the laboratory of
criminalistics.

J. Forensic Sci. 5, 369 (1960).

CHUNDELA, B., and J. JANÁK:

Stanovení alkoholu v krvi plynovou chromatografií.
Soudní lékařství 4, 145 (1959).

CHUNDELA, B., and J. JANÁK:

Quantitative determinations of ethanol besides other volatile substances in blood and other body liquids.
J. forensic Med. 7, 153 (1960).

McCORD, W. M., und R. H. GADSDEN:

The identification and determination of alcohols in blood by gas chromatography.
J. Gas Chromatogr. 2, 38 (1964).

DAVIS, R. A.:

The determination of ethanol in blood or tissue by gas chromatography.
J. forensic. Sci. 11, 205 (1966).

DIETZE, S.:

Gaschromatographische Bestimmung von Äthylalkohol im Blut.
Beckman-Report 4, 6 (1959).

DIMROTH, K.:

Artikel im Handbuch der physiologisch- und pathologisch chemischen Analyse, von Hoppe-Seyler/Thierfelder. Bd. III/1, S. 383.
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1955.

DRAWERT, F., R. FELGENHAUER und G. KUPFER:

Reaktions-Gaschromatographie.
Angew. Chem. 12, 555 (1960).

DRAWERT, F., und G. KUPFER:

Reaktions-Gaschromatographie, V^{1,2} Analyse von Blut-Alkohol.
Ztschr. physiol. Chem. 329, 90 (1962).

ELBEL, H., und F. SCHLEYER:

Blutalkohol.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1956.

FLASCHENTRÄGER, B., und E. LEHNARTZ:

Lehr- und Handbuch der physiologischen Chemie. Bd. II/1 a, S. 327.
Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1951.

FORD, H.:

J. Elliot. Soc. 1, 43 (1859),

zit. nach G. Landsberg.

FOX, J. E.:

Gas chromatographic analysis of alcohol and certain other
volatiles in biological material for forensic purposes.

Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 97, 236 (1958).

GEHM, E., und W. SCHMID:

Beitrag zur Klärung des Blutalkoholschwundes bei länger
gelagerten Seren.

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 52, 424 (1962).

GREEN, L.:

GC trace gas analysis using a hot wire thermal conductivity
detector.

Facts and Methods 8, 2 (1967).

GRÜNER, O.:

Der gerichtsmedizinische Alkoholnachweis.

Carl Heymanns Verlag KG, Köln-Berlin-Bonn-München 1967.

HESSEL, D. W., and F. R. MODGLIN:

The quantitative determination of ethanol and other volatile substances in blood by gas-liquid partition chromatography. J. forensic Sci. 6, 255 (1964).

HESSEL, D. W., and F. R. MODGLIN:

The determination of carbon monoxide in blood by gas-solid chromatography.

J. forensic Sci. 12, 123 (1967).

HEYNDRIX, A., E. VANDENBUSSCHE and V. COULIER:

Determination of ethyl- and methylalcohol in blood by gaschromatography. Distribution of ethylalcohol in a human foetus.

J. Pharm. Belg. 1961, S. 334.

JANÁK, J.:

Ausnutzung der gaschromatographischen Phasengleichgewichtsmethode zur Spurenanalyse von flüchtigen Stoffen in der Luft (Gasen).

Mitteilung Bodenseewerk Perkin-Elmer 32 GC, März 1967.

JANITZKI, U.:

Über den gaschromatographischen Nachweis flüchtiger Substanzen im Blut nach Aufnahme durch die Atemwege.

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 52, 22 (1961).

JÖRGENSEN, A.:

Mikroorganismen der Gärungsindustrie. 7. Aufl.

Verlag Hans Carl, Nürnberg 1956.

KAISER, R.:

Chromatographie in der Gasphase.

Hochschultaschenbücher, Bd. 22 - 24 a.

Bibliographisches Institut, Mannheim 1960/66

KEULEMANS, A. I. M.:

Gas-Chromatographie.

Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. 1959.

KRAUS, E. M.:

Zur Verwendung von Leichenblut in der sowjetischen Medizin.
Blut 16, 227 (1968).

KRAULAND, W., E. VIDIC und K. FREUDENBERG:

Über den Beweiswert einer zweiten Blutalkoholbestimmung
an länger gelagerten Blutproben.

II. Mitteilung.

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 52, 76 (1961/62).

KRAULAND, W., E. VIDIC, K. FREUDENBERG, B. SCHMIDT und
V. LENK:

Über den Beweiswert einer zweiten Blutalkoholbestimmung an
länger gelagerten Blutproben.

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 50, 34 (1960).

KRETZSCHMAR, H.:

Hefe und Alkohol.

Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1955.

LANDSBERG, G.:

Über den Alkoholgehalt tierischer Organe.

Z. physiol. Chem. 41, 505 (1904).

LASKARIS, M. A., J. A. SCHMIT and H. L. ASHMEAD:

Rapid method for the determination of alcohols in biological
fluids: Gas chromatography of ethyl alcohol.

Facts and Methods for scientific research 4, 8 (1963).

LIBAVIUS:

Zit. bei: H. J. REHM.

LINDNER, J.:

Vitale Reaktionen.

Vortrag gehalten auf der 44. Tagung der Deutschen Gesellschaft für gerichtliche und soziale Medizin in Hamburg, 1965.

MACHATA, G.:

Die Routineuntersuchung der Blutalkoholkonzentration mit dem Gaschromatographen.

Mikrochim. Acta 1962, S. 691.

MACHATA, G.:

Über die gaschromatographische Blutalkoholbestimmung. Analyse der Dampfphase.

Mikrochim. Acta 1964, S. 262.

MACHATA, G.:

Neuere Methoden der Gaschromatographie, besonders für die gerichtliche Medizin.

Öster. Chem. Ztg. 66, 1 (1965).

MACHATA, G.:

Über die gaschromatographische Blutalkoholbestimmung. Blutalkohol 4, 252 (1967).

MARICQ, L., and L. MOLLE:

Investigations on the determination of alcoholism by gas chromatography.

Bull. Acad. Roy. Med. Belg. 6, 199 (1959).

MARIGO, M.:

Il dosaggio dell'alcoolemia mediante cromatografia gassosa. Minerva Medicolegale 81, 63 (1961).

MARKIEWICZ, J.:

Investigations on endogenous carboxyhaemoglobin.

J. forensic Med. 14, 16 (1967).

MATUMOTO, H.:

Studies on the micro-determination of alcohol.

III. Gas-chromatographic analysis of ethanol.

Jap. J. Leg. Med. 14, 420 (1960).

MEHLITZ, A., und K. GIERSCHNER:

Über die bisherige gaschromatographische Untersuchung der Aromastoffe von Früchten.

Riechstoffe und Aromen 1963, S. 1.

MILLER, M. W.:

The Pfitzer Handbook of microbial metabolites.

McGraw-Hill Book Comp., New York 1961.

MÜLLER, E.:

Der Zelltod.

Handbuch der allgemeinen Pathologie. Bd. I.

Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1958.

NICLOUX, M.:

L'alcool dans le sang putréfiés et chez le cadavre.

Microdosage. Étude chimique. Néoformation.

Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) 18, 318 (1936).

NICLOUX, M.:

Dosage de l'alcool dans le sang et les tissus putréfiés.

Applications à l'étude de l'évolution de l'alcool dans le sang en voie de putréfaction ainsi que chez le cadavre d'un mammifère (souris) inhumé ou non.

Ann. Méd. Lég. 16, 113 (1936).

- OSTERHAUS, E., und K. JOHANNSMIEIER:
Gaschromatographische Bestimmung von Alkoholen, Äther
und Aceton im Blut und Urin.
Blutalkohol 2, 1 (1963).
- OSTERHAUS, E., und K. JOHANNSMIEIER:
Postmortale Entstehung von Alkoholen durch Fäulnis.
Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 57, 281 (1966).
- PARKER, K. D., C. R. FONTAN, J. L. YEE and P. L. KIRK:
Gaschromatographic determination of ethyl alcohol in
blood for medicolegal purposes.
Anal. Chem. 34, 1234 (1962).
- PESCH, G.:
Détermination de l'heure de la mort.
Inaug.-Diss. Straßburg 1958.
- RAEKALLIO, J.:
Die Altersbestimmung mechanisch bedingter Hautwunden mit
enzymatischen Methoden.
Verlag Max Schmid-Römhild, Lübeck 1965.
- REHM, H. J.:
Industrielle Mikrobiologie.
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1967.
- SJÖVALL, E., und E. WIDMARK:
Alkoholbestämning vid rättsmedicinska obduktioner.
Lunds Univ. Årsskr., N. F. Avd. 25, 2 (1930).
- ŠKRABÁNEK, P., und J. NOVAK:
Bestimmung des Blutaethylalkohols mittels der Gaschromatographie.
Blutalkohol 2, 271 (1966).

SLYKE, D. D. van, J. R. WEISIGER and W. O. CRUZ:

J. biol. Chem. 166, 121 (1946).

Angegeben im Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse von Hoppe-Seyler/Thierfelder. Bd. II, S. 247. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1955.

SPECHT, W.:

Schweflige Säure und Formaldehyd in Leichenteilen.

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 26, 341 (1936).

SPECHT, W.:

Chemische Abbaureaktionen bei der Leichenzersetzung.

Erg. path. Anat. 33, 138 (1937).

SPRECHER, E., und K. H. STRACKENBROCK:

Neue gaschromatographische Methode zur kontinuierlichen Direktanalyse nativer Duftstoffe.

Z. Naturforschg. 18 b, 495 (1963).

SCHMIDT, G.:

Postmortale Veränderungen von Arzneistoffen und Giften in Organen und Körperflüssigkeiten.

Artikel im Lehrbuch der chemischen Toxikologie und Anleitung zur Ausmittlung der Gifte von Gadamer, 3. Aufl., Bd. 1, im Druck.

SCHMIDT, O., B. FORSTER und G. SCHULZ:

Untersuchungen über die Anteile der Eigen- und Fremdenzyme am postmortalen Eiweißzerfall.

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 52, 28 (1961).

SCHMIDT, O., D. LORKE und B. FORSTER:

Studien über postmortale Abbauvorgänge.

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 49, 206 (1959).

SCHNEIDER, F. L.:

Quantitative organic microanalysis.

Springer-Verlag, Wien 1964.

SCHWERD, W.:

Die Beurteilung von Alkoholbefunden im Leichenblut.

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 43, 221 (1954).

SCHWERD, W., Th. DIMMLING und J. KREBS:

Der Einfluß bakterieller Verunreinigungen auf den Alkohol-
gehalt länger gelagerter Blutproben.

Blutalkohol 4, 260 (1967).

SCHWERD, W., und C. L. GARHAMMER:

Über den Nachweis von niederen primären Alkoholen der
aliphatischen Reihe und deren Bildung im faulenden Blut.

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 42, 75 (1953).

STAUBER, O.:

Experimentelle Studien über das Auftreten von Methanol,
Äthanol und Alkoholen mit mehr als 2 C-Atomen bei der
Fäulnis von Blut.

Inaug.-Diss. Erlangen 1953.

STEINBERG, M., J. B. NASH and J. A. WALKER:

Quantitation of alcohols using gas chromatography and a
15 % halcomid column.

J. forensic Sci. 10, 201 (1965).

TIESS, D.:

Über Alkoholnachuntersuchungen an gelagerten Blutproben.

Zschr. ärztl. Fortbild. 58, 846 (1964).

TRAJANOWSKA, M.:

Anwendung von Merthiolat und Natriumfluorid als Vorbeugungsmittel gegen die "endogene" Alkoholentstehung im Leichenblut. (Polnisch).

Arch. med. sadowej 16, 25 (1964).

VETSCH, M. A.:

Das Massenspektrometer als Detektor für die Gaschromatographie.

Mitteilung Bodenseewerk Perkin-Elmer 29 GC (1966).

WAGNER, H. J.:

Die Bedeutung der Antibiotika und Sulfonamide für Todes- und Tatzeit-Bestimmungen in der gerichtlichen Medizin.

Habilitationsschrift Mainz 1960.

WAGNER, K.:

Über die Veränderlichkeit des Alkoholgehaltes von Leichenblut und nicht steril aufbewahrten Blutproben.

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 26, 276 (1936).

WALLACE, J. E., and E. V. DAHL:

Rapid vapor phase method for determining ethanol in blood and urine by gas chromatography.

Tech. Bull. Regist. med. Technol. 36, 150 (1966).

WALCHER, K.:

Die späten Leichenveränderungen.

Erg. path. Anat. 33, 55 (1937).

WEINIG, E.:

Eine Methode zur Alkoholbestimmung im Leichenblut.

Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 40, 318 (1951).

WEINIG, E.:

Die Nachweisbarkeit von Giften in exhumierten Leichen.
Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 47, 397 (1958).

WEINIG, E., und L. LAUTENBACH:

Die Gaschromatographie als neue Methode in der forensischen
Toxikologie und Kriminalistik.
Arch. Kriminol. 122, 11 (1958).

WEINIG, E., und L. LAUTENBACH:

Die Beurteilung von Alkoholbefunden in Leichenblutproben.
Blutalkohol 1, 222 (1962).

WEINIG, E., L. LAUTENBACH und G. SCHMIDT:

Zur Frage der Störung des ADH-Verfahrens durch Einatmen
flüchtiger Stoffe.
Blutalkohol 2, 193 (1963).

WEINIG, E., W. SCHWERD und L. LAUTENBACH:

Die Neubildung von Äthanol, Methanol und anderen Alkoholen
im Leichenblut und ihre forensische Bedeutung.
Beitr. z. gerichtl. Med. 21, 114 (1961).

WEYRICH, G.:

Ein vereinfachtes Wägeverfahren für die quantitative Alkohol-
bestimmung im Blut nach Widmark.
Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. 28, 354 (1937).

WIDMARK, E. M. P.:

Die theoretischen Grundlagen und die praktische Verwend-
barkeit der gerichtlich-medizinischen Alkoholbestimmung.
Berlin und Wien 1932.

WOLTERS, H.:

Vapour fractometry (gas chromatography). Separation of primary, aliphatic alcohols ($C_1 - C_5$) in dilute, aqueous solutions. Description of a simple experimental apparatus. Acta med. Leg. (Liege) 2, 325 (1956).

WÜSTENDÖRFER, L.:

Über die bakterielle Alkoholbildung aus Kohlehydraten, Eiweiß und Fetten.

Inaug.-Diss. Erlangen 1953.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990
